

Análisis e integración de la información sobre OGMs con eventos Bt.: Reporte final sobre el análisis de riesgo por su liberación.

Jorge E. Ibarra y Ma. Cristina Del Rincón Castro.
CINVESTAV-Campus Guanajuato, Irapuato, Gto. México

INTRODUCCIÓN

La desvinculación del hombre de su entorno natural fue la consecuencia de un desarrollo intelectual y tecnológico sin parangón en la evolución de la vida sobre la tierra. El hombre modificó su entorno para mejorar su supervivencia y su capacidad reproductiva. Diseñó y construyó herramientas que mejoraron significativamente su habilidad para conseguir el alimento disponible en su entorno. Sin embargo, un hito quizás tan trascendental como el dominio del fuego, lo constituyó el desarrollo de las técnicas que le permitieron producir (crear) su propio alimento. Hace unos 15,000 años el hombre inició la domesticación de las plantas que le servían de alimento, para producirlas masivamente. La plasticidad genética de las plantas le permitió seleccionar, a través de infinidad de generaciones, aquellas que le fueran más útiles para sus propósitos. Y así continuó modificando el material hereditario de las plantas, hasta ya entrado el siglo XX, cuando finalmente le dio sustento científico, y comprendió los mecanismos que habían permitido acumula los innumerables cambios realizados en las plantas a través de una interminable historia de selección.

Las herramientas que proporcionó la incipiente ciencia de la Genética para mejorar las características de las plantas cultivadas, aceleró significativamente la capacidad para obtener nuevas variedades. Esta revolución agrícola permitió incrementar considerablemente la habilidad para producir alimento para la creciente población humana. La revolución científico-tecnológica experimentada desde la segunda mitad del siglo XX hasta nuestros días, y que continúa en forma acelerada, nos ha permitido comprender las minucias que ocurren a nivel molecular durante la transmisión de una característica heredada. Ahora sabemos que los secretos de la vida están escritos en un alfabeto de cuatro letras (A, T, G, y C) y que la estructura, el funcionamiento y gran parte de la conducta de un hombre están regulados por la secuencia de aproximadamente 3,000 millones de estas letras, contenidas en cada núcleo de nuestras células, de la misma forma que 4 millones de estas letras regulan la vida de una bacteria, o que 500 millones de éstas regulan la vida de una mosca, o que 2,500 millones de ellas regulan la vida de una planta de maíz.

Nuestro conocimiento sobre la molécula de la vida, el DNA, no sólo nos ha permitido describir su contenido, sino que ha inducido el desarrollo de herramientas que permiten manipular ese contenido. De esta forma se ha logrado escindir secuencias del código genético (genes) que codifican proteínas específicas, las cuales, debido a la universalidad del código genético, pueden ser funcionales en otros organismos, aún cuando éstos sean totalmente diferentes al organismo original. Esta capacidad para transferir material genético entre diferentes organismos, es lo que ha dado origen a los llamados “organismos transgénicos”, u “organismos genéticamente modificados” u OGMs. Es decir, organismos a los que se les ha integrado un nuevo gene en su código genético, y que lo

expresa como una nueva proteína en sus tejidos. Estos nuevos organismos, desarrollados por manipulación genética o Ingeniería Genética, representan la “punta de lanza” en el desarrollo biotecnológico de nuestra era. En la actualidad, los OGMs son ampliamente utilizados en la salud, en la industria y, especialmente, en la agricultura; sin embargo, su potencial indica que apenas estamos en el inicio de un era de desarrollo acelerado en el uso de los OGMs.

LAS PLANTAS TRANSGÉNICAS

Las plantas transgénicas se han desarrollado con el objeto de resolver una gran diversidad de problemas, como la tolerancia a factores ambientales, el aumento en la calidad nutricional de los cultivos, la producción de materiales industriales o de vacunas y, muy significativamente, la resistencia a plagas y enfermedades. Sin embargo, su desarrollo tecnológico y su eficiencia en el campo no son suficiente razón para que una planta transgénica sea liberada al campo, sin antes pasar por una serie de requerimientos de seguridad. Estos requerimientos son impuestos a través de reglamentos desarrollados, regulados y avalados por los gobiernos de cada país, los cuales tienen como objetivo salvaguardar la salud y la integridad de sus gobernados, así como la de su medio ambiente. Más aún, el tema de las plantas transgénicas ha sido sujeto a una serie de críticas por parte de varias ONGs y la ciudadanía en general, lo cual hace imperativo que se cuente con suficiente evidencia recabada a través de estudios científicos, que indiquen su inocuidad en el campo, así como en sus productos. El tema de las plantas transgénicas resistentes al ataque de insectos plagas será abordado en esta compilación, con el objeto de revisar los estudios realizados sobre sus posibles efectos adversos en la salud humana y la ecología, y que por lo mismo pudieran restringir su liberación en el campo.

En 1987 apareció el primer reporte sobre el desarrollo de una planta transgénica resistente al ataque de un insecto plaga. La planta fue el tabaco, la plaga, el gusano de cuerno del tabaco, y la proteína que confería la resistencia, la delta-endotoxina proveniente de la bacteria bioinsecticida *Bacillus thuringiensis*. A partir de entonces se han desarrollado innumerables plantas transgénicas resistentes a plagas, tanto con el mismo tipo de toxinas de la misma bacteria, como con proteínas de origen diverso. La gran mayoría de estas plantas se han desarrollado a nivel experimental, y sólo unas cuantas finalmente fueron comercializadas y liberadas a partir de 1996, todas éstas últimas con genes provenientes de la bacteria *B. thuringiensis*. Esto da el nombre genérico que han recibido estas plantas: maíz Bt, algodón Bt, papa Bt, canola Bt, etc.

Bacillus thuringiensis

La bacteria *B. thuringiensis* fue descubierta en 1901 por el investigador japonés Shigetane Ishiwata, causando mortalidad a las colonias del gusano de seda. Posteriormente, otra cepa fue aislada por Ernst Berliner a partir de una plaga de los graneros provenientes de la provincia alemana de Thüringen (Turingia), quien la clasificó como una nueva especie: *Bacillus thuringiensis*, debido a su origen. Aunque la bacteria se utilizó en forma limitada como agente de control de plagas a finales de los 20 y principios de los 30, ésta fue relegada, primero por el surgimiento de la segunda guerra mundial y luego por el advenimiento de los insecticidas químicos. No fue sino hasta los años 50 en que Edward Steinhaus reinició su estudio, comprobando su gran potencial como agente de control de plagas, y promoviendo su desarrollo industrial y comercial como bioinsecticida. Para 1959 ya existía en el mercado un producto a base de esta bacteria y desde entonces estos

productos se han diversificado ampliamente, llegando a constituir cerca del 5% del consumo de insecticidas en el mundo.

B. thuringiensis produce grandes cantidades de diversas proteínas durante su última fase de crecimiento, las cuales conforman un cristal dentro de sus células. Estas proteínas, llamadas Cry, rompen el intestino de los insectos susceptibles que las ingieren, causándoles la muerte. Su especificidad es tan alta, que sólo atacan a un grupo específico de insectos, como por ejemplo las orugas de los lepidópteros, las cuales, por cierto, constituyen el grupo que contiene las plagas agrícolas más importantes en el mundo. Otras toxinas Cry tienen actividad insecticida contra otro tipo de plagas, como los coleópteros, y otras contra mosquitos y jejenes. Todas estas toxinas son el producto directo de la expresión de genes contenidos en la bacteria, de ahí su importancia en la transferencia de estos genes a las plantas. Es decir, cuando estos genes son integrados al genoma de las plantas, éstas producen la toxina como cualquier otra proteína de sus tejidos. Si una plaga susceptible ingiere el tejido de la planta transgénica, la plaga se intoxicará y morirá sin siquiera haber causado un daño perceptible a la planta. Esta es la base de la eficiencia de las plantas Bt contra el ataque de las plagas que son susceptibles a este tipo de toxinas.

A pesar de que existen más de 300 toxinas Cry reportadas, sólo unas cuantas han sido utilizadas en el desarrollo de plantas transgénicas (Tabla 1). Asimismo, a pesar de que existe una gran cantidad de plantas transformadas con los genes *cry* de *B. thuringiensis*, sólo algunas han sido liberadas y explotadas comercialmente (Tabla 1).

Tabla 1. Principales cultivos transgénicos que expresan alguna toxina de *B. thuringiensis*, y los insectos blanco hacia los que fueron desarrolladas.

CULTIVO	TOXINA	PLAGA
Álamo	Cry1Aa, Cry3Aa	<i>Lymantria dispar</i> , <i>Chrysomela tremulae</i>
Alfalfa	Cry1Ca	<i>Spodoptera littoralis</i>
Algodón	Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Ab	<i>Heliothis virescens</i> , <i>Helicoverpa zea</i> , <i>S. exigua</i> , <i>Pseudoplusia includens</i>
Arroz	Cry1Ab, Cry1B, Cry1Ac, Cry2A	<i>Chilo suppressalis</i> , <i>Cnaphalocrosis medinalis</i> , <i>Scirpophaga incertulas</i> , <i>Nilaparvata lugens</i>
Berenjena	Cry1Ab, Cry3A	<i>Leucinodes orbonalis</i> , <i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Brocoli	Cry1C	<i>Plutella xylostella</i>
Canola	Cry1Ac	<i>Trichoplusia ni</i> , <i>S. exigua</i> , <i>H. virescens</i> , <i>H. zea</i> , <i>P. xylostella</i>
Maíz	Cry1Ab, Cry9c	<i>Ostrinia nubilalis</i>
Papa	Cry1Ab, Cry1Ab, cry3Aa	<i>Phthorimaea operculella</i> , <i>Heliothis armigera</i> , <i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Repollo	Cry1Ab	<i>P. xylostella</i>
Soya	Cry1Ac	<i>H. virescens</i> , <i>H. zea</i> , <i>P. includens</i>
Tabaco	Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1C, Cry2A	<i>Manduca sexta</i> , <i>H. virescens</i> , <i>H. zea</i> , <i>S. littoralis</i> , <i>H. armigera</i> , <i>S. exigua</i>
Tomate	Cry1Ab, Cry1Ac	<i>H. virescens</i> , <i>H. armigera</i>

Adaptado de Fontes et al., 2002

RIESGOS SOBRE LA SALUD HUMANA

A pesar de que las plantas transgénicas sólo difieren de las plantas originales por un gene (dos, en algunos casos) de un total de decenas de miles, éstas deben ser sujetas a escrutinio para asegurar que no causen daño a la salud humana ni al medio ambiente. Un daño a la salud podría ser ocasionado por algún efecto tóxico directo de la nueva proteína. Es decir, que la toxina Cry expresada por la planta transgénica sea también tóxica al hombre. Otro daño directo de la toxina se podría manifestar como una reacción alérgica hacia la nueva proteína. Es importante mencionar que la inocuidad de las toxinas Cry de *B. thuringiensis* ha sido sujeta a pruebas exhaustivas desde hace más de 4 decenios, debido a que el registro de los productos comerciales a base de esta bacteria lo han requerido. Además, el uso de estos productos en el campo cuenta con un record de seguridad total, ya que los casos reportados como posibles efectos deletéreos hacia el hombre o sus animales domésticos nunca han sido suficientemente comprobados. Caso por demás diferente al de los insecticidas químicos.

Independientemente de estos antecedentes, las plantas que expresan las proteínas Cry son sujetas a elaboradas pruebas de seguridad toxicológicas y alergénicas. La tabla 2 resume la información más relevante acerca de los reportes donde se investigan los posibles efectos dañinos de las plantas Bt hacia el hombre y animales domésticos, la cual se resume a continuación. Cabe hacer mención que las pruebas de toxicidad aguda se basan en el hecho de que las proteínas generalmente expresan su toxicidad a dosis bajas. De ahí que la ausencia de un efecto manifiesto de intoxicación, incluso a dosis muy altas, indican inocuidad. Las pruebas conducidas sobre ratones de laboratorio con dosis miles de veces mayores a las que normalmente podrían estar sujetas por alimentación con plantas Bt, no han indicado ningún efecto deletéreo hasta la fecha. Estas pruebas se han efectuado tanto con la toxina purificada a partir de la bacteria, como la expresada en las plantas Bt. Otras pruebas tratan de determinar lo que sucede a las toxinas Cry cuando éstas son ingeridas por el hombre o los animales. Para ello se extraen fluidos del estómago y del intestino, a los que se les agrega la toxina, ya sea pura o en los tejidos de la planta, y se observa la estabilidad de la toxina por medio de pruebas químicas, inmunológicas e incluso dándolas a larvas susceptibles a las toxinas. Los resultados indican que las proteínas Cry se degradan, en promedio, en menos de los 7 minutos después de ser añadidas a los fluidos gástricos.

En otro aspecto de salud, siendo las toxinas Cry de naturaleza proteica, éstas podrían desarrollar respuestas alérgicas en el hombre. Más aún, el desarrollo de una respuesta alérgica no requiere de la presencia de una proteína completa, ya que algunos fragmentos de ésta serían suficientes, en caso de que éstas fueran agentes alérgicos. Como ya se mencionó, las proteínas Cry se degradan rápidamente en el ambiente digestivo de los vertebrados. Además, el procesamiento de los productos alimenticios que contienen maíz Bt incluye pasos como el calentamiento y la extrusión, los cuales han demostrado que degradan a estas proteínas. Más aún, se han comparado las estructuras moleculares de la toxina del maíz Bt con la de las proteínas de conocida alergenidad, y no se ha encontrado ninguna similitud. Y sin embargo, está el caso del StarLink.

StarLink es el nombre comercial de un evento de maíz que expresa la proteína Cry9C de *B. thuringiensis*, desarrollada por la compañía Aventis. La agencia de protección al medio ambiente de Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) otorgó el permiso para su uso como ingrediente en alimento balanceado de ganado, mientras continuaban las pruebas de seguridad para su utilización como alimento humano. Sin embargo, prematuramente se detectó su presencia en tostadas de maíz de la cadena Taco Bell, lo cual

Tabla 2. Reportes sobre el efecto de diversos cultivos Bt en el hombre y otros vertebrados.

ESPECIE	PLANTA (toxina)	EFEECTO	REFERENCIA
Humano	Algodón (Cry1Ac)	El uso del algodón-Bt puede disminuir el riesgo y el impacto de las intoxicaciones en los agricultores de la región norte de China	Hossain <i>et al.</i> , 2004
Humano	Algodón (Cry1Ac)	Mejoras en la salud de los agricultores por disminución de uso de químicos	Huang <i>et al.</i> , 2002a, 2005
Humano	Maíz (Cry1F)	Ausencia de alergenicidad de la toxina	Ladics <i>et al.</i> , 2006
Humano	Maíz StarLink (Cry9C)	En el 95 % de los casos, Bt fue un contaminante y no causó ningún daño clínico. En 3 pacientes no se pudo ni asegurar ni descartar un posible efecto patológico	Green <i>et al.</i> , 1990
Humano	Maíz Starlink (Cry9C)	Reacción alérgica	Sutton <i>et al.</i> , 2003
Humano	Maíz Starlink (Cry9C)	Cuestiona la veracidad del reporte de Sutton <i>et al.</i> , 2003	Siruguri <i>et al.</i> , 2004
Humanos	Maíz StarLink (Cry9C)	51 reportes de reacciones alérgicas al consumir este maíz, pero éstos no se pudieron probar.	Bernstein <i>et al.</i> , 2003
Cerdos	Maíz Bt11 (Cry1Ab)	El DNA y la proteínas no se degradaron completamente, pero no tuvieron ningún efecto en el desarrollo y comportamiento	Chowdhury <i>et al.</i> , 2003
Cerdos	Maíz (Cry1Ab)	Nutrientes crudos aislados de las heces no fueron significativamente diferentes con el Maíz-Bt	Reuter <i>et al.</i> , 2002
Lechones	Maíz MON810 (Cry1Ab)	No hay diferencias significativas en los genes derivados de plantas, en los diferentes órganos	Mazza <i>et al.</i> , 2005
Ovejas	Maíz (Cry1Ab)	Se determinó por PCR la presencia en el fluido del rumen de ovejas un fragmento del gen <i>cry1Ab</i>	Duggan <i>et al.</i> , 2003
Pollos para asar	Maíz N7070Bt (Cry1Ab)	No hubo diferencias significativas, en el tamaño, peso y comportamiento.	Brake <i>et al.</i> , 2003;
Pollos para asar	Maíz VIP3A (Cry1Ab)	Más rápido crecimiento, menor mortalidad y mejor tasa de conversión de alimento	Brake <i>et al.</i> , 2005

Tabla 2 (cont.)

ESPECIE	PLANTA (toxina)	EFEECTO	REFERENCIA
Pollos para asar	Maíz MON810 (Cry1Ab)	Utilizando métodos analíticos altamente sensibles, no se detectó DNA ni proteína Cry en los músculos	Jennings <i>et al.</i> , 2003
Pollos para asar	Soya (Cry1Ac)	La soya-Bt es nutricionalmente equivalente a la soya no transgénica	Kan y Hartnell, 2004
Pollos para asar	Algodón (Cry-X: Cry1Ac y Cry2Ab)	No hubo diferencias significativas en la ganancia de peso, conversión de alimento, utilización de nutrientes y compuestos en la sangre	Mandal <i>et al.</i> , 2004
Pollos para asar	Maíz (Cry1Ab)	No hay diferencias significativas en el desarrollo de los pollos y el nivel del DNA transgénico en el tracto digestivo	Rossi <i>et al.</i> , 2005
Pollos para asar	Maíz (Híbrido NX 6262–Bt 176)	No hubo diferencias significativas en diversos parámetros de desarrollo y nutrición con respecto a los controles.	Tony <i>et al.</i> , 2003
Pollos para asar	Maíz MON863 (Cry3Bb1), Maíz MON810 (Cry1Ab), Maíz YieldGard Plus (MON810×MON863)	No hubo diferencias significativas en el desarrollo, metabolismo y comportamiento con respecto a los controles	Tylor <i>et al.</i> , 2003
Pollos para asar	Maíz MON 88017 (Cry3Bb1 y CP4 EPSPS <i>Agrobacterium sp.</i>), MON 88017 × MON 810 (Cry1Ac)	Desarrollo y producción de carne similar a la de la alimentación con maíz sin transformar	Tylor <i>et al.</i> , 2005
Pollos y gallinas para asar	Maíz Bt. 176 (Cry1Ab)	No hubo diferencias significativas en el metabolismo y desarrollo de ambas aves	Aeschbacher <i>et al.</i> , 2005
Ratas	Maíz (Cry1F)	No hubo diferencias significativas nutricionales, clínicas, oftalmológicas o patológicas	McKenzie <i>et al.</i> , 2007
Ratas Wistar	Arroz (Cry1Ab)	No hubo efecto en comportamiento o desarrollo en 90 días	Schroder <i>et al.</i> , 2007
Ratones	Maíz (Cry1Ac)	No hay un efecto medible sobre el desarrollo testicular en ratones durante la fase fetal, postnatal, en la pubertad o en la etapa adulta	Brake <i>et al.</i> , 2004

Tabla 2 (cont.)

ESPECIE	PLANTA (toxina)	EFEECTO	REFERENCIA
Ratones	Papa (CryI)	Cambios sutiles en la configuración estructural del ileum	Fares y El-Sayed, 1998
Vacas	Maíz (Cry1Ac)	Es más importante el estado de madurez del maíz que las presencia del maíz transgénico por sí mismo	Folmer <i>et al.</i> , 2002
Vacas	Maíz (Cry1Ab)	La proteína Cry1Ab se degrada en el intestino de las vacas	Lutz <i>et al.</i> , 2005
Vacas	Soya (Cry1Ab)	Solamente se detectó DNA en la fase sólida del rumen y el duodeno. No en leche, sangre, heces u otros órganos	Phipps <i>et al.</i> , 2003
Vacas	Maíz (Cry1Ab)	El gen <i>cry</i> se degrada en el rumen de las vacas después de las 8 h de ingestión	Wiedemann <i>et al.</i> , 2006
Vacas, peces gatos y codornices	Algodón Bollgard II	No hubo diferencias con respecto al algodón convencional, en la utilidad y seguridad	Hamilton <i>et al.</i> , 2004

fue ampliamente publicitado y sujeto a manejos políticos, más que científicos. La incidencia de algunos casos de alergias siguió a este incidente, y en poco tiempo ya se tenían más de 50 casos registrados. De éstos, 51 fueron estudiados y en ninguno se pudo demostrar el desarrollo de alergias (Tabla 2). Adicionalmente, el Centro de Control de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC, por sus siglas en inglés) estudió otros 17 casos de presuntas reacciones alérgicas al Cry9C; sin embargo, ninguna de las 17 muestras de sangre mostraron reacción cruzada contra ésta proteína. Aún así, la compañía Aventis decidió substraer del mercado a StarLink. Otra consecuencia fue que la EPA ahora ya no otorga el permiso en etapas. Es importante señalar que existen multitud de proteínas alergénicas en los alimentos de uso común, como los cacahuates, las fresas, los huevos, los camarones, sólo por mencionar unos pocos ejemplos. Esta capacidad de algunas proteínas para causar alergias depende de los individuos que son susceptibles a ellas. Se calcula que aproximadamente 1 de cada 200 individuos en los Estados Unidos, tienen algún grado de susceptibilidad alérgica a los cacahuates. Esto implica que quizás en el futuro se presenten casos bien documentados y apoyados por evidencia científica que avale la alergenicidad de algunas proteínas Cry. Situación que aún no ha ocurrido. Sin embargo, de ser así, habría que evaluar el riesgo de liberar un posible alérgeno, al compararlo con la presencia de otros alérgenos presentes cotidianamente en la canasta alimenticia. En conclusión, los datos acumulados hasta la fecha muestran que ninguno de los productos registrados por las compañías productoras de plantas Bt presentan algún tipo o nivel de toxicidad hacia el hombre y sus animales domésticos. De la misma forma, ninguno de estos productos muestran datos fehacientes acerca de su posible alergenicidad hacia el hombre.

RIESGOS AMBIENTALES

En lo que respecta a los riesgos ambientales que se tomarían al liberar las plantas Bt al campo, éstos pueden ser de varios tipos: a) la persistencia (y sus efectos) de las proteínas Cry en el campo; b) la transferencia del gene *cry* a plantas silvestres relacionadas con el cultivo; c) el efecto de las proteínas Cry sobre organismos que no son plagas (organismos no blanco), y d) el posible desarrollo de resistencia de las plagas hacia las proteínas Cry.

a) Acumulación y Persistencia de las Proteínas Cry en el Campo

Como se mencionó anteriormente, los cultivos Bt producen las proteínas Cry en sus tejidos. Considerando que hasta la fecha los cultivos Bt registrados producen la proteína Cry en todos sus tejidos, aunque en diferentes niveles de expresión en cada uno de ellos (Tabla 3), cabe suponer que estas proteínas podrían permanecer en el campo, junto con los residuos del cultivo, por algún tiempo. Así que cabe preguntar, primero, ¿cuánta proteína Cry permanece en el campo, y por cuánto tiempo?, y segundo ¿qué efecto tendría esa proteína residual en el ambiente? Para responder la primera pregunta se han reportado tanto cálculos teóricos como cuantificaciones en campo, de las cantidades de proteína Cry que permanece en el campo, después de la cosecha. Es importante hacer notar que la proteína Cry se produce en la planta en diferentes niveles a lo largo de su ciclo de crecimiento. Es decir, se ha observado que los cultivos Bt presentan su máxima expresión durante la floración del cultivo, para después disminuir significativamente sus niveles de expresión. Cuando los tejidos de la planta mueren, la proteína Cry también se degrada rápidamente. Se ha calculado que esta degradación, aunque varía para cada cultivo y para cada condición ambiental, es del orden de 50 a 88%.

Cálculos teóricos y cuantificaciones realizadas en el campo estiman que por cada hectárea pueden permanecer desde 300 hasta 1,200 gramos de proteína Cry después de la cosecha. Estos residuos tienen una tasa de degradación variable, pero generalmente sigue un patrón de degradación lenta, al inicio, seguida de una degradación acelerada, para luego continuar con una degradación lenta de aproximadamente el 10% restante de la proteína. La degradación es más rápida si los residuos vegetales son incorporados al suelo, de ahí que el tiempo de degradación media (el tiempo que tarda en degradarse el 50% de la proteína Cry) puede variar desde 1.6 días, cuando los residuos son incorporados al suelo, hasta 25.6 días, si no lo son. La degradación del 90% de las proteínas Cry residuales puede tardar desde 15 hasta 40 días, e incluso más para algunos casos particulares. Estos casos particulares se han relacionado a la adsorción de las proteínas Cry a partículas de arcilla o de humus, lo que retarda significativamente su degradación por los microorganismos del suelo. Más aún, se ha demostrado que las proteínas adheridas a esas partículas siguen siendo activas, cuando se les administra a insectos susceptibles.

Adicionales a estas proteínas Cry residuales se ha observado que la raíz de los cultivos Bt liberan (exudan) a estas proteínas al suelo. Aún es debatible si se trata realmente de un exudado o si sólo son las células que la raíz va desechando durante su crecimiento. Independientemente de esto, se han detectado las proteínas Cry en suelo, durante la fase de crecimiento del cultivo. Sin embargo, tanto estas proteínas como las residuales no son absorbidas por otras plantas sembradas en los mismos campos, como lo demuestran estudios realizados bajo condiciones controladas. Si bien es necesario continuar con los estudios acerca del destino que siguen las proteínas residuales en el medio ambiente, no se han logrado detectar lixiviación de estas proteínas hacia suelos profundos ni hacia corrientes de agua subterránea ni externas. Es importante hacer notar que los niveles de proteína Cry residuales en el campo, provenientes de los cultivos Bt, son comparables con los niveles residuales de cualquier aplicación de productos a base de *B. thuringiensis*. Un resumen de los estudios sobre los residuos de las proteínas Cry en el campo se presenta en la Tabla 4.

Tabla 3. Niveles de expresión de las proteínas Cry en diferentes cultivos y diferentes tejidos de la planta.

Cultivo	Hojas	Raíz	Semilla	Planta
Maíz Cry1Ab	10.34		0.19-0.39	4.65
Maíz Cry1F	56.6-148.9		71.2-114.8 ^a	250 ^a
Maíz Cry 3Bb1	30-93	3.2-6.6	49-86	13-54
Algodón Cry1Ac	2.04		1.62	
Papa Cry3A	28.27	0.39 ^b		3.3
Todos los pesos están expresados en mg/kg de tejido fresco, excepto en a: ng/mg de proteína total, y b: mg/kg de tubérculo (Adaptado de Clark et al., 2005).				

Por otro lado, el efecto de estos residuos en el suelo se ha estudiado a nivel de los microorganismos y los invertebrados que habitan este medio ambiente. Es pertinente aclarar que *B. thuringiensis* es una bacteria que se le ha asociado comúnmente a la microflora del suelo. De ahí que la existencia de proteínas Cry en este ambiente no debe ser extraño, aún en comunidades naturales. Adicionalmente, los estudios de bioseguridad realizados con productos bioinsecticidas a base de esta bacteria, los cuales se han aplicado

Tabla 4. Reporte importantes sobre el efecto de los residuos de las proteínas Cry provenientes de cultivos Bt, en el suelo.

CULTIVO (Toxina)	EFEECTO	REFERENCIA
Maíz (Cry1Ab)	DNA Cry1Ab extraído de suelo, sedimento y superficie del agua y persistió 40 y 21 días en los dos últimos. El gen se detectó a 82 km del área sembrada.	Douville <i>et al</i> , 2007
Maíz (Cry1Ab)	La mayor cantidad de toxina excretada es lábil y se descompone en suelo, pero una pequeña porción se retiene en residuos recalcitrantes	Hopkins <i>et al</i> , 2003
Algodón (Cry1Ac)	Rápido declive de la concentración de toxina excretable a los 14 días. Degradación biótica más probable que la absorción en suelo	Palm <i>et al</i> , 1996
Maíz MON810 (Cry1Ab)	En los efluentes de silo o materiales provenientes del maíz-Bt, se encontraron solo cantidades trazas de la toxina después de la fermentación	Rauschen y Schuphan, 2006
Maíz (Cry1Ab), Papa (Cry3A), Arroz (Cry1Ab), Canola, Algodón y Tabaco(Cry1Ac).	Las toxina se libera de exudados de la raíz y se adhiere a las partículas del suelo, excepto para Canola, Algodón y Tabaco. El movimiento vertical de las toxinas decrece conforme se incrementa la concentración de minerales en el suelo	Stotzky, 2004
Algodón (Cry2A)	La toxina pierde rápidamente su actividad biológica en el suelo ya que se disipa en 120 días	Sims y Ream, 1997
Maíz (Cry1Ab)	Plantas no transformadas (zanahoria, rábano y nabo) no toman del suelo exudados de la toxina Cry liberada por el maíz-Bt	Saxena y Stotzky, 2001b
Plantas Bt-transgénicas de maíz, arroz, papa, canola, tabaco y algodón	Las toxinas Cry se liberan al suelo por exudados de las raíces en maíz, arroz y papa, pero no en canola, tabaco y algodón	Saxena <i>et al</i> , 2004
Arroz (Cry1Ab)	No se detectaron residuos de la proteína Cry en la rizosfera del suelo	Wang <i>et al</i> , 2005
Maíz (Cry1Ab)	En el campo con labor, la toxina no se degradó en varios meses, pero en otro sin labor se degradó en un 38% a los 40 días	Zwahlen <i>et al</i> , 2003

Tabla 5. Reportes acerca del efecto de los residuos de los cultivos Bt integrados al suelo, sobre microorganismos e invertebrados propios de este hábitat.

CULTIVO (Cry)	ORGANISMOS	EFEECTO	REFERENCIA
Maíz (Cry1Ab)	Comunidad bacteriana de la rizósfera	La estructura de la comunidad bacteriana se afectó más por la edad de la planta que por la proteína Cry	Baumgarte y Tebbe, 2005
Maíz (Cry1Ab)	Comunidad microbiana de suelo	La expresión de la toxina Cry no tuvo un efecto significativo en la estructura de la comunidad del suelo	Blackwood y Buyer, 2004
Maíz Bt11 y Bt176 (Cry1Ab)	Comunidades eubacteriales de la rizósfera y suelo sobre el simbionte micorrícico <i>Glomus mosseae</i>	Diferencias significativas en las comunidades eubacteriales asociadas y significativamente más bajo nivel de colonización micorrícica en Bt 176.	Castaldini <i>et al</i> , 2005
Maíz (Cry3Bb)	Microorganismos del suelo	No efecto en la comunidad microbiana o bacteriana	Devare <i>et al</i> , 2004
Papa (Cry-3Aa)	Microflora asociada a papa (hongos y bacterias)	No hay diferencias significativas en la microflora del filoplano	Donegan, <i>et al</i> 1996
Maíz (Cry1Ab)	Nemátodos, protozoarios y microartrópodos de suelo	El único efecto significativo en la estructura de la comunidad microbiana del suelo fue el tipo de suelo y el estado de crecimiento de la planta	Griffiths <i>et al</i> , 2006
Maíz (Cry1Ab)	Nemátodos y microorganismos del suelo	Hubo diferencias significativas en la abundancia de nemátodos, no se atribuye al gen cry	Griffiths <i>et al</i> , 2007
Maíz Cascade y MEB307 (Cry1Ab)	<i>Protaphorura armata</i> .	No hubo efecto negativos sobre este colémbolo	Heckmann <i>et al</i> , 2006
Maíz (Cry1Ac)	Bacterias de suelo	Bt induce cambios a corto plazo a nivel funcional en la comunidad microbiana del suelo	Mulder <i>et al</i> , 2006
Maíz (Cry1Ab), Papa (Cry3A), Arroz (Cry1Ab), Canola, Algodón y Tabaco (Cry1Ac).	Lombrices, nemátodos, protozoarios, bacterias y hongos de suelo	Efectos no consistentes sobre estos organismos	Stotzky, 2004
Maíz (Cry1Ab)	<i>Lumbricus terrestris</i>	No efecto en las lombrices adultas o inmaduras	Zwahlen <i>et al</i> , 2003b

en el campo como plaguicidas desde hace casi 50 años, han demostrado su inocuidad hacia las comunidades de microflora y fauna del suelo. Independientemente de estos antecedentes, los residuos de los cultivos Bt depositados en el suelo de los campos agrícolas han sido sujetos a estudios de bioseguridad. En la tabla 5 se presentan los estudios más relevantes a este respecto. En resumen, los estudios acumulados hasta la fecha indican que los residuos de los cultivos Bt adicionados al suelo no muestran efecto significativo alguno contra las bacterias, actinomicetos, hongos, protozoarios, algas, nemátodos, colémbolos y lombrices de tierra, habitantes comunes de este hábitat.

b) Transferencia del Gene *cry* a Otras Plantas

En lo referente al riesgo de que el gene *cry* de los cultivos Bt sea transferido a alguna otra planta, y que ésta lo exprese, es necesario tomar ciertas precauciones y realizar los estudios apropiados que permitan sustentar las decisiones apropiadas. Como antecedentes, sería necesario advertir que existe la posibilidad, aunque baja, de que algunas plantas sean fertilizadas por polen de otras especies de plantas. Para que esto ocurra, es necesario que existan condiciones muy especiales, como por ejemplo: a) que estas plantas deben estar evolutivamente muy relacionadas; b) que contengan el mismo número de cromosomas; c) que haya compatibilidad citológica entre ellas, lo cual permita formarse el tubo polínico en una especie diferente; d) que exista sincronía en la maduración de las flores; y e) que compartan el mismo hábitat. Aún con todas estas condiciones que minimizan las posibilidades de una fertilización cruzada entre especies, ésta puede llegar a ocurrir. La preocupación principal es que el gene *cry* pueda llegar a alguna planta con potencial o probada capacidad de maleza, y que al expresar el gene, éste le confiera una mayor capacidad de supervivencia e incluso de esparcirse más rápidamente.

Los estudios al respecto son pocos y en ningún caso se ha detectado dicha transferencia genética en el campo. De ahí que sea necesario analizar caso por caso, tomando en cuenta las regiones con potencial para que esto ocurra (áreas con plantas silvestres relacionadas al cultivo y con antecedentes de entrecruzamiento), así como realizar estudios bajo condiciones controladas que permitan demostrar que dicho entrecruzamiento pueda ocurrir. Dichos estudios deben incluir un análisis sobre la potencialidad que tiene la planta silvestre para convertirse en maleza, así como la importancia del factor ecológico que se eliminaría. Es decir, si una planta silvestre eventualmente incorpora a su genoma un gen *cry*, la ventaja que le proporcionaría será proporcional a la importancia que tienen los insectos susceptibles a la toxina Cry que se alimentan de esa planta. Mientras dichos estudios no se lleven a cabo, y si los antecedentes existentes indican una posible transferencia genética y una potencial conversión en maleza, sería aconsejable restringir la liberación del cultivo Bt a esas áreas. Eso es lo que ha ocurrido con la restricción de sembrar algodón Bt en algunas áreas del estado de Florida, en los Estados Unidos.

El caso del maíz Bt en México cobra particular importancia debido a que en nuestro país se encuentran distribuidos algunos posibles ancestros del maíz (teocintle) en algunas regiones, los cuales crecen en forma silvestre, o incluso en asociación con cultivos de maíz. Si bien existen antecedentes que indican la incompatibilidad de algunas especies de teocintle con el maíz cultivado, y que en los casos en que se ha observado fertilización cruzada, las características híbridas se pierden durante las siguientes generaciones, sería necesario realizar una serie de estudios específicos que fundamenten la factibilidad de dicho riesgo. Por lo pronto se sabe que la distribución natural del teocintle se circunscribe casi en su totalidad al cinturón neovolcánico de nuestro país, con algunas pocas y

restringidas excepciones hacia el norte y sur de la república. También se sabe que, en forma extraordinaria, el polen del maíz puede llegar a ser funcional hasta una distancia de 50 metros del campo de cultivo, siendo sólo algunos metros lo normal. De ahí que, salvo un análisis más detallado, se podría concluir que la mayor parte de país podría potencialmente quedar libre del riesgo de transferencia de genes al teocintle nativo.

c) Efecto Sobre Insectos No-blanco

Otro riesgo que debe tomarse en cuenta sobre la presencia de cultivos Bt en el campo, es su posible efecto deletéreo sobre poblaciones de insectos que no son plaga (insectos no blanco), particularmente aquellos insectos que son benéficos por consumir o parasitar a las plagas (enemigos naturales de las plagas). Primeramente, es necesario recordar que las toxinas de *B. thuringiensis* son muy específicas hacia las plagas que controla. La mayoría de las toxinas conocidas tiene un efecto variable entre larvas de las especies de lepidópteros (orugas), otro grupo de toxinas tiene un efecto mucho más específico hacia sólo algunas especies de coleópteros, mientras que otro grupo de toxinas tiene un efecto hacia muchas especies de mosquitos y jejenes. Por obvias razones, las toxinas de *B. thuringiensis* importantes para la agricultura son las pertenecientes a los dos primeros grupos, y sobre todo las primeras. En segundo lugar, los productos bioinsecticidas a base de *B. thuringiensis* han demostrado desde hace varias décadas su inocuidad hacia insectos no-blanco. Sólo algunos de estos reportes se presentan en la Tabla 6, donde se concluye la especificidad de estos productos hacia las plagas para las que fueron diseñados. Independientemente de estos antecedentes, se han realizado innumerables experimentos tendientes a corroborar que los cultivos Bt son inocuos a otras especies de insectos que no sean plagas. En la Tabla 7 se resumen los reportes más relevantes a este respecto. De ellos se puede concluir que no existe riesgo para la entomofauna benéfica presente en los campos agrícolas donde los cultivos Bt se siembran. Además de este cúmulo de evidencias, el registro de las variedades transgénicas deben ser probadas contra animales modelo, como las ardillas, pulgas de agua, abejas de la miel, catarinitas y crisopas depredadoras de plagas, avispa parásita de plagas, colémbolos, y lombrices de tierra. En ningún caso se ha detectado efecto adverso alguno. En el caso particular del algodón Bt, cuya polinización la realizan los insectos (polinización entomófila) se efectuaron pruebas de toxicidad contra abejas, catarinitas y crisopas, todas con capacidad polinizadora, y en ningún caso se detectó algún efecto deletéreo.

Es importante hacer notar que sólo algunas especies de lepidópteros son plagas agrícolas, y que el resto de los lepidópteros son potencialmente susceptibles a las toxinas que producen los cultivos Bt. Este es el caso particular de las mariposas (aunque existen algunas mariposas que son plagas), y más específicamente, la mariposa monarca, cuyo caso fue ampliamente publicitado. En 1999 se publicó en una revista de alta relevancia científica el efecto tóxico del polen de maíz Bt sobre las larvas de esta mariposa. A éste le siguieron otros reportes, pero también una serie de críticas a la forma de probar la toxicidad (ver Tabla 6). Hasta ahora, nadie duda del efecto potencialmente tóxico del polen sobre ésta y otras especies de lepidópteros no-blanco. Sin embargo, en reportes científicos posteriores se demostró que, bajo las condiciones de campo reales a las que están sujetas las poblaciones de la mariposa monarca (y otros lepidópteros no-blanco), la cantidad de polen que se depositaría sobre las hojas de las asclepias (plantas de las que se alimentan dichas larvas) es mucho menor a la dosis que podría causar efectos dañinos a estas larvas. Más aún, se demostró que sólo las asclepias que estuvieran a un metro (o menos) de distancia del borde

Tabla 6. Reportes relevantes sobre el efecto de productos a base de *B. thuringiensis* sobre insectos no-blanco.

INSECTO	PRODUCTO	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Ostrinia insidiosus</i>	Dipel	No efecto en tiempo de desarrollo, peso y longitud corporal.	Al Deeb <i>et al</i> , 2001
<i>Chrysophtharta birnaculata</i> , <i>Chauliognathus lugubris</i> , <i>Cleobora mellyi</i> , y <i>Harrnonia conformis</i> <i>Tyria jacobaeae</i>	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>tenebrionis</i> (Novodor) <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	Efecto adverso del 40% en la supervivencia en <i>C. lugubri</i> . Cuestionado por otros autores Efecto en 4o y 5o instares y en la tasa de defoliación	Greener y Candy, 1994, 1995 James <i>et al</i> , 1993
<i>Papilio glaucus</i> L., <i>P. canadensis</i> y <i>Callosamia promethea</i>	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	Bt fue tóxico hacia las 3 especies, a los 30 días después de asperjarse	Johnson <i>et al</i> , 1995
<i>Ephemerella</i> sp., <i>Heptagenia flavescens</i> , <i>Isonychia</i> sp, <i>Paraleptophlebia notario</i> , <i>Rithroena</i> sp., <i>Stenonema vicarium</i> , <i>Acroneturia abnormis</i> , <i>Isonychia</i> sp, <i>Taeniopteryx nivalis</i> , <i>Hydropsyche</i> sp., <i>Hesperophylax dowsignatus</i> , <i>Lepidostoma</i> sp. <i>Diadegma</i> sp.	Dipel	En 11 de las especies no hubo efectos, solo 30% mortalidad en <i>Taeniopteryx nivalis</i>	Kreutzweiser <i>et al</i> , 1992
	<i>B. thuringiensis</i> HD-1	No hay efecto en el desarrollo, emergencia o parasitismo	Monnerat <i>et al</i> , 1998
42 especies de lepidópteros nativos	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> (Foray 48B and Dipel 8AF)	Significativa mortalidad en 27 de las 42 especies con Foray 48B y 8 con Dipel 8AF	Peacock <i>et al</i> , 1998
<i>Haryalus pensylvanicus</i> , <i>Chlaenius</i> sp. <i>Anisodactylus californicus</i> , <i>Pterostichus</i> spp., <i>Agonum punctiforme</i> , y <i>Calathus ruficollis</i>	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	<i>H. pensylvanicus</i> y <i>Chlaenius</i> sp fueron significativamente más activos en campos con insecticidas o virus, que en campos con Bt. En las otras especies no hubo diferencias	Riddick y Mills, 1995

Tabla 6 (cont.)

INSECTO	PRODUCTO	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Diadegma insulare</i>	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawi</i>	No efecto ni en desarrollo ni en parasitismo	Riggin-Bucci y Gould, 1997
<i>Chrysoperla carnea</i>	Toxina Cry1Ab	Concentraciones 10,000 veces mayores a las expuestas realmente, no causaron ningún efecto	Romeis <i>et al</i> , 2004
Líneas celulares de <i>Aedes albopictus</i> , <i>Chonstoneura fumiferana</i> 63 CF1, <i>Spodoptera frugiperda</i> Y <i>Trichoplusia ni</i>	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	Rápidos cambios citológicos y histopatológicos en todas las líneas celulares	Thomas y Ellar, 1983
Lepidópteros nativos no blanco Microlepidópteros y Macrolepidópteros: <i>Phoberia atolnaris</i> , <i>Orthosia rubescens</i> , <i>Malacosolna disstria</i> , y <i>Satyrium calanus</i>	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Menor abundancia en los microlepidópteros, no significativa. Disminución de 10 veces en abundancia en 4 de los 12 especies de macrolepidópteros	Wagner <i>et al</i> , 1996
<i>Incisalia fotis</i> , <i>Caliophrys sheridanii</i> y <i>Neominois ridingsii</i>	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Las tres especies son significativamente sensibles a Bt	Whaley <i>et al</i> , 1998
16 especies de Insectos béticos de los ordenes Ephemeroptera, Plecóptera, Trichóptera, and Díptera	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	No hay efectos en la mayoría de las especies, con la excepción de 2: <i>Tipula abdominalis</i> and <i>Arthroplea bipunctata</i>	Wipfli <i>et al</i> , 1994
<i>Tenodera aridifolia sinensis</i>	Larvas de <i>T. ni</i> alimentadas con <i>B. thuringiensis</i> . var. <i>kurstaki</i>	No hay efecto sobre <i>T. aridifolia</i>	Yousten, 1973

Tabla 7. Sinopsis de los reportes más relevantes acerca del efecto de los cultivos Bt sobre insectos no-blanco.

ESPECIE DE INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
500,000 artrópodos de 203 grupos taxonómicos, 112 familias y 13 ordenes. 70% sapróvoros, 13% herbívoros, 14% depredadores, y 3% parasitoides	Maíz (VIP3A y Cry1Ab)	No se afectó significativamente la biodiversidad de las comunidades y los niveles de respuesta	Dively, 2005
Abundancia y función de enemigos naturales y diversidad de artrópodos	Algodón (Cry1Ac)	El uso de algodón-Bt no afecta ninguno de estos puntos y es un método de control extremadamente selectivo	Naranjo y Ellsworth, 2002
<i>Apis mellifera</i>	Maíz (Cry1Ab y Cry1F)	No hubo diferencias significativas en mortalidad y desarrollo	Hanley <i>et al</i> , 2003
Artrópodos no blanco (100 especies analizadas)	Algodón (Cry1Ac)	Leves diferencias (4.5%) en la abundancia de una especie de dípteros y 2 de hemípteros	Whitehouse <i>et al</i> , 2005
Artrópodos no blanco a) Insectos: <i>Lygus lineolaris</i> , <i>Euschistus</i> spp., <i>Geocoris</i> spp., <i>G. punctipes</i> , <i>Orius</i> spp., <i>Orius insidiosus</i> , <i>Nabis</i> spp. b) Arañas de los órdenes Araneidae, Lycosidae, Oxyopidae y Thomisidae	Algodón Bollgard (Cry1Ac)	No hubo un impacto significativo sobre las poblaciones de artrópodos no blanco	Head <i>et al</i> , 2005
Artrópodos: Anthocoridae, Coccinellidae, Araneae, Carabidae, Araneae	Maíz (Cry1Ab)	No efecto en la abundancia de todos los órdenes	Poza <i>et al</i> , 2005
<i>Hemisia tabaci</i> , <i>Lygus hesperus</i> , <i>Campoletis sonorensis</i>	Algodón (Cry1Ac) Tabaco (Cry1Ab)	La proporción depredador:presa no se afectó El parasitismo se incrementó en las plantas transgénicas	Naranjo, 2005 Johnson y Gould, 1992
<i>Chrysoperla carnea</i>	Maíz (Cry1Ab)	Existe un efecto deletéreo sobre larvas de <i>C. carnea</i> alimentadas con presas que consumieron PT-Bt	Hilbeck <i>et al</i> , 1998, Hilbeck <i>et al</i> , 1999

Tabla 7 (cont.)

ESPECIE DE INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Chrysoperla carnea</i> <i>Rhopalosiphum padi</i> , <i>Tetranychus urticae</i> y <i>Spodoptera littoralis</i>	Maíz (Cry1Ab)	No efecto en la tasa intrínseca de incremento natural, excepto alta tasa de mortalidad en <i>S. littoralis</i> .	Dutton <i>et al</i> , 2002
<i>Chrysoperla carnea</i> , <i>Myzus persicae</i>	Canola (Cry1Ac)	No diferencia significativa en el número de <i>C. carnea</i> recuperados, excepto cuando la densidad del áfido fue baja.	Schuler <i>et al</i> , 2005
<i>Coleomegilla maculata</i>	Maíz (Cry3Bb1)	No efectos negativos en la abundancia de huevos, larvas, pupas o adultos	McManus <i>et al</i> , 2005
Comunidades de artrópodos y enemigos naturales	Algodón (Cry1Ac)	Incremento en la diversidad de artrópodos pero decrece la diversidad de enemigos naturales	Men <i>et al</i> , 2003
<i>Cotesia marginiventris</i> , <i>Microplitis rufiventris</i>	Maíz (Bt11, N4640Bt)	Ambas avispas no mostraron diferencias en la atracción a la emisión de compuesto volátiles	Turlings <i>et al</i> , 2005
<i>Cotesia plutellae</i>	Canola (Cry1Ac)	Efecto en porcentaje y tiempo de emergencia en el parasitoide si se alimentaba de <i>P. xylostella</i> susceptibles, no en las resistentes	Schuler <i>et al</i> , 2003 y 2004
<i>Danaus plexippus</i> (mariposa monarca)	Maíz (Cry1Ab)	El cultivo del maíz-Bt no representa un riesgo para la mariposa monarca	Gatehouse <i>et al</i> , 2002
<i>Danaus plexippus</i>	Maíz (Cry1Ab, Cry1F, Cry9C), toxinas Cry1Ab, Cry1Ac, Cry9C, Cry1F.	Solamente el híbrido 176 (Cry1Ab) afectó larvas de los primeros instares. Sólo las toxinas Cry1Ab y Cry1Ac afectaron larvas de primeros instares	Hellmich <i>et al</i> , 2001
<i>Danaus plexippus</i> ^a	Maíz N4640 (polen)	Tasa de supervivencia decreció al 56%.	Losey <i>et al</i> , 1999
<i>Danaus plexippus</i> ^b	Maíz (Cry1Ac) polen en la planta de <i>A. syriaca</i>	Índice de mortalidad a las 120 h del 37 al 70%	Hansen Jesse y Obrycki, 2000
<i>Danaus plexippus</i>	Maíz N4640 (exposición al polen)	Critica a los dos anteriores bajo el argumento de que fueron dirigidos	Hodgson, 1999

Tabla 7 (cont.)

ESPECIE DE INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Danaus plexippus</i>	Maíz (Cry1Ab)	Tienen más impacto las prácticas agrícola y el uso de químicos, que el uso del maíz-Bt.	Oberhauser et al, 2001
<i>Danaus plexippus</i>	Maíz (Cry1Ac) polen	En dos años de estudio, se determinó que no hay efecto del polen del maíz	Sears et al, 2001
<i>Danaus plexippus</i>	Maíz , Bt-176, Bt11 o Mon810 (Cry1Ab)	Al incrementar la cantidad de polen Bt-176, se afectó el desarrollo o la sobrevivencia. Polen Bt-11 o Mon 810 no tuvieron efecto	Stanley-Horn et al, 2001
<i>Danaus plexippus</i> y <i>Papilio polyxenes</i>	Maíz Novartis evento 176	Efecto subletal, reducción en tasa de crecimiento de <i>P. polyxenes</i> , por polen	Zangerl et al, 2001
<i>Diaeretiella rapae</i> y el pulgón <i>Myzus persicae</i>	Canola (Cry1Ac)	No efectos dañinos en la capacidad del parasitoide para controlar al pulgón, ni en su emergencia	Schuler et al, 2001
Diversos artrópodos no blanco	Maíz (Cry1Ab)	No se afectaron las comunidades de artrópodos en suelo, hojas y voladores	Candolfi et al, 2004
<i>Eriborus terebrans</i> , <i>Macrocentrus grandii</i>	Maíz (Cry1Ab)	No efecto en los niveles de parasitismo hacia <i>O. nubilalis</i>	Orr y Landis, 1997
<i>Geocoris punctipes</i> , <i>G. pallens</i> , <i>Orius tristicolor</i> , <i>Nabis</i> spp., <i>Lygus alterius</i> .	Papa (Cry3A)	No hubo efectos dañinos en la longevidad de las especies probadas	Armer et al, 2000
<i>Harmonia axyridis</i> , <i>Nebria brevicollis</i>	Papa (Cry3A)	No efecto en la supervivencia o ganancia de peso, fecundidad o viabilidad de huevecillos	Ferry et al, 2007
Herbívoros no blanco: <i>Chaetocnema pulicaria</i> , <i>Popillia japonica</i> , <i>Diabrotica undecimpunctata howardi</i> . Depredadores de los órdenes Coccinellidae, Araneae, y Nabidae	Maíz (Cry1Ab)	Toxina Cry1Ab detectada en todos los artrópodos analizados, pero no se describe si hubo algún efecto	Harwood et al, 2005
<i>Hippodamia convergens</i>	Papa (Cry3A)	No hubo diferencias significativas sobre la sobrevivencia, consumo de pulgones o reproducción	Doggan et al, 1996

Tabla 7 (cont.)

ESPECIE DE INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
Insectos no blanco: escarabajos y hormigas	Algodón (Cry1Ac)	No hubo diferencias significativas en la biodiversidad de insectos no blanco	Cataneo <i>et al</i> , 2006
Invertebrados no blanco: Lepidópteros, Coleópteros, Hemípteros, Hymenópteros	Algodón (Cry1Ac), Maíz (Cry1Ab) y Maíz (Cry3A)	Invertebrados no blanco son más abundantes en los campos de algodón y maíz Bt, que en los campos con cultivos no transgénicos	Marvier <i>et al</i> , 2007
<i>Lycaeides melissa samuelis</i>	Exposición indirecta al polen del maíz N4640	Existe un pequeño potencial de riesgo en la adquisición del polen-Bt	Peterson <i>et al</i> , 2006
<i>Lycoriella pleuroti</i>	Algodón (Cry1Ac)	Efecto en la mortalidad directamente proporcional a la dosis	Xu <i>et al</i> , 2006
<i>Lydella thompsoni</i> , <i>Pseudoperichaeta nigrolineata</i> , <i>Metopolophium dirhodum</i> , <i>Rhopalosiphum padi</i> , <i>Sitobion avenae</i> , <i>Orius insidiosus</i> , <i>Syrphus corollae</i> , <i>Coccinella septempunctata</i> , <i>Chrysoperla carnea</i>	Maíz Bt-176 y Mon810 (Cry1Ab)	Significativa variación en parasitismo de <i>L. thompsoni</i> y <i>P. nigrolineata</i> con Bt-176. Para Mon810, se observó variación en el número de individuos entre estaciones.	Bourguet <i>et al</i> , 2002
<i>Neoseiulus cucumeris</i>	Maíz Bt11 (Cry1Ab)	No efecto en parámetros de desarrollo y degradación	Obrist <i>et al</i> , 2006
<i>Nilaparvata lugens</i> <i>Cyrtorhinus lividipennis</i>	5 líneas transgénicas de Arroz	No efecto en supervivencia hasta adultos, peso y tiempo de desarrollo	Bernal <i>et al</i> , 2002
<i>Nilaparvata lugens</i> Stål, y su depredador <i>Propylea japonica</i> (Thunberg).	Arroz (Cry1Ab)	Ambos insectos estuvieron expuestos a la toxina pero no se afectó el desarrollo de ambos.	Bai <i>et al</i> , 2005 y 2006
<i>Orius insidiosus</i>	Maíz (Novartis 7590Bt)	No efecto en tiempo de desarrollo, peso y longitud corporal.	Al Deeb <i>et al</i> , 2001
<i>Orius insidiosus</i> , <i>Coleomegilla maculata</i> <i>Hippodamia convergens</i> , y <i>Scymnus spp</i>	Maíz (Cry3Bb1)	No diferencias significativas en desarrollo larval, fecundidad y viabilidad de huevecillos	Ahmad <i>et al</i> , 2006

Tabla 7 (cont.)

ESPECIE DE INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Orius tristicolor</i> , <i>Geocoris punctipes</i> , <i>Nabis</i> sp. y <i>Zelus renardii</i>	Algodón (Cry1Ac)	Efecto negativo en <i>O. tristicolor</i> y <i>G. punctipes</i> , no efecto en <i>Nabis</i> sp. y <i>Z. renardii</i>	Ponsard <i>et al</i> , 2002
<i>Papilio polyxenes</i>	Maíz (Cry1Ab)	No hay efecto detrimental	Wraight <i>et al</i> , 2000
<i>Poecilus cupreus</i>	Maíz (Cry1Ab)	Efecto depende más de la calidad de la presa alimentada con Maíz-Bt, que de un efecto directo	Meissle <i>et al</i> , 2005
<i>Pterostichus madidus</i>	Canola (Cry1Ac)	Efectos mínimos sobre la biología del depredador	Ferry <i>et al</i> , 2006
<i>Rhopalosiphum padi</i>	Maíz (Cry1Ab)	No se detectó por ELISA la presencia de la toxina	Raps <i>et al</i> , 2001
<i>Spodoptera littoralis</i> (herbívoro no blanco) y <i>Cotesia marginiventris</i> (parasitoide)	Maíz (Cry1Ab)	Larvas de <i>S. littoralis</i> y <i>C. marginiventris</i> significativamente afectadas, adultos no. La toxina no se acumula en niveles tróficos.	Vojtech <i>et al</i> , 2004
<i>Tetrastichus howardi</i>	Maíz-Bt	Las plantas Bt-transgénicas podrían afectar a los hiperparasitoides de manera indirecta, al disminuir las poblaciones de sus presas	Prutz <i>et al</i> , 2004
Varias especies de pulgones, <i>Zyginidia scutellaris</i> Herrich-Schäfer) Depredadores: Heteroptera Anthocoridae), Coleoptera (Coccinellidae), y Arachnidae (Araneae).	Maíz (Cry1Ab)	En un estudio de 6 años, no se encontró un efecto negativo en plagas no blanco y depredadores.	Eizaguirre <i>et al</i> , 2006

del campo de maíz Bt podrían reunir las condiciones para acumular suficiente polen como para causar un efecto dañino. Se comprobó que las aplicaciones de insecticidas químicos en los campos de maíz no Bt, causan una mortalidad muy superior.

Otro caso similar fue el de las crisopas, depredadores generales de plagas pequeñas, donde se reportaron efectos deletéreos al alimentarlas con plagas a las que se les había administrado las toxinas Cry. Después de una serie de experimentos sobre el tema, se llegó a la conclusión de que los efectos dañinos detectados originalmente, se debían a la baja calidad de las presas que consumían, ya que habían sido expuestas previamente a las toxinas Cry. Más aún, se probó que las toxinas Cry no se unen a las células del intestino de las crisopas, lo cual es un requisito indispensable para que la toxina tenga efecto. En forma similar, debido también al efecto de las proteínas Cry sobre las presas que son alimento de los depredadores naturales, se ha observado que algunos campos con cultivos Bt presentan también bajas poblaciones de depredadores, ya que sus presas, o están en un estado sub-óptimo, o bien sus poblaciones son demasiado bajas, lo cual, a final de cuentas, es el objetivo final. Sin embargo, también existen algunos reportes (ver Tabla 6) donde se detectan poblaciones más altas de depredadores en los campos con cultivos Bt, que en los convencionales. Se argumenta que esto se debe a que los campos con cultivos Bt no aplican insecticidas químicos (o son mínimos), que son los principales factores de mortalidad de los enemigos naturales de las plagas.

Siguiendo con el tema del efecto del polen de los cultivos Bt sobre lepidópteros no-blanco, es importante hacer notar que las cantidades de productos a base de *B. thuringiensis* que se aplican masivamente para controlar plagas forestales son mucho mayores que las que eventualmente podrían estar sujetas por la simple dispersión del polen. En ningún caso se ha demostrado que estas aplicaciones hayan tenido un efecto dañino sobre las poblaciones no-blancas de los lepidópteros que habitan estos ecosistemas naturales. Aún así, cabe destacar que la situación de especies de lepidópteros en peligro de extinción deben analizarse caso por caso. Es decir, si existen refugios de especies amenazadas o protegidas, y estos refugios están en riesgo de exposición a dosis tóxicas de polen de cultivos Bt, se deben establecer los límites apropiados para mantener esas especies a salvo. En México existen dos especies de lepidópteros reportadas, una como especie amenazada y otra como especie protegida. La primera es un papalote (*Papilio esperanza*) y la segunda es la mariposa monarca. En este último caso existe suficiente evidencia como para temer un efecto dañino sobre sus poblaciones. Al respecto, cabe señalar que el efecto de las proteínas Cry es nulo sobre los adultos de los lepidópteros, en general, por lo que un posible efecto del polen Bt sobre los santuarios de la mariposa monarca queda descartado. En el caso del papalote, se requerirían estudios que permitieran hacer un análisis de riesgo sobre la eventual exposición del polen Bt hacia este lepidóptero.

d) Desarrollo de Resistencia a las Proteínas Cry

Otro aspecto de posible riesgo sobre la liberación de los cultivos Bt al campo, es la factibilidad de que las plagas susceptibles a las proteínas Cry desarrollen resistencia hacia ellas, eliminando no sólo la posibilidad de seguir utilizando a éstas como medidas de control de plagas, sino también predisponiendo a las plagas al uso de los productos a base de *B. thuringiensis*. Muchos especialistas en el tema consideran a esta posibilidad como “el talón de Aquiles” de los cultivos Bt. A pesar de que los productos a base de *B. thuringiensis* se utilizan masivamente desde 1959, no fue sino hasta 1987 que se reportó el primer caso de desarrollo de resistencia de una plaga, después de seleccionarla en el laboratorio, y en 1990

se reportó el primer caso de desarrollo de resistencia en el campo. Cabe mencionar que este último caso sigue siendo el único que se ha reportado hasta la fecha, aunque bajo condiciones controladas de laboratorio se ha logrado desarrollar resistencia en diversas plagas y hacia una variedad de proteínas Cry. Los antecedentes sobre el desarrollo de resistencia a insecticidas indican que si una población de la plaga se expone en forma continua a un insecticida, la plasticidad genética de la población eventualmente permitirá que algunos pocos individuos resistentes se seleccionen a través de las generaciones, para posteriormente conformar una población de individuos resistentes.

Por lo tanto, conociendo que las plagas susceptibles a las toxinas Cry tienen el potencial de desarrollar resistencia hacia ellas, y que los cultivos Bt expondrían en forma continua a las poblaciones de las plagas a la presión de selección de las proteínas Cry, es lógico prever que se combinan las circunstancias para el desarrollo de la resistencia. Es por eso que, años antes de la liberación de los cultivos Bt al campo, paneles de expertos se reunieron en diversas ocasiones y bajo los auspicios de diferentes organizaciones, con el objeto de discutir y desarrollar las mejores estrategias que impidieran, o al menos retrasaran, el desarrollo de la resistencia por parte de las plagas. Con este cúmulo de discusiones, se llegó a la conclusión de establecer tres estrategias básicas: a) los cultivos Bt deberían sobre-expresar las proteínas Cry a niveles tales que una mínima ingestión del tejido vegetal fuera suficiente para aniquilar al insecto susceptible; b) la preservación de los genes de susceptibilidad de las poblaciones de la plaga (muchísimo más numerosos que los de resistencia) se lograría si se siembra una proporción de plantas no-Bt (refugios) junto con las plantas Bt; y c) se desarrollarían plantas con más de una proteína Cry en la misma planta, lo cual disminuiría drásticamente la posibilidad de que un individuo fuera resistente a ambas toxinas.

Los cultivos Bt liberados desde 1996 siguieron las primeras dos estrategias, y sólo hasta últimas fechas se han liberado plantas (algodón) con dos proteínas Cry. Si bien la primera estrategia no depende del agricultor, ya que es intrínseca a la planta transformada, la segunda sí, por lo que las propias compañías productoras de las semillas transgénicas tratan de llevar un control, el cual, también está regulado por algunos gobiernos (en Argentina, la segunda estrategia se sigue en forma voluntaria, mientras que en México es obligatoria). La proporción de plantas Bt y no-Bt en el campo se estableció en un principio en 80-20%, respectivamente. Sin embargo, esta proporción se ha revisado recientemente, a la luz de los resultados obtenidos, y ésta puede llegar a reducirse hasta a 95-5%. Es decir, tanto los consorcios como los gobiernos de los países han mantenido un estricto monitoreo de las poblaciones de las plagas expuestas a los cultivos Bt, con el objeto de detectar el posible desarrollo de resistencia. Un ejemplo digno de mencionar es el programa de cooperación binacional entre el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) y la Secretaría de Agricultura de México, donde se coordinan esfuerzos para mantener un monitoreo estricto de las plagas de algodón en el norte de nuestro país y el sur de Estados Unidos. Sería conveniente mencionar que casi el 50% del algodón sembrado en México en 2003 fue algodón Bt.

Los resultados de estos monitoreos, tanto en nuestro país como en otros donde se siembran cultivos Bt, indican que en ningún caso se ha desarrollado resistencia por parte de las poblaciones de las plagas en el campo, en forma espontánea, hasta la fecha. No obstante, existen numerosos reportes de desarrollo de resistencia inducida bajo condiciones controladas, en el laboratorio o en el invernadero, que los investigadores han desarrollado intencionadamente, con el objeto de estudiar los mecanismos que regulan el desarrollo de

Tabla 8. Reportes relevantes de los estudios básicos sobre el desarrollo de resistencia de las plagas a las toxinas Cry y sobre la eficiencia de las estrategias de manejo de resistencia de las plagas.

INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Heliothis zea</i>	Algodón (Cry1Ac)	Menor susceptibilidad con respecto al algodón silvestre	Ali <i>et al</i> , 2006
<i>Chilo suppressalis</i> , <i>Scirpophaga incertulas</i> , <i>Cnaphalocrocis medinalis</i> y <i>Naranga aenescens</i>	Arroz (Cry1Ab)	Solamente en <i>C. suppressalis</i> hubo retardo en su desarrollo	Alinia <i>et al</i> , 2000
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Maíz (Cry1Ac)	Incremento de 1000 veces en la resistencia hacia esta toxina	Alves <i>et al</i> , 2006
<i>Chrysomela tremulae</i>	Álamo (Cry3Aa)	Hubo un incremento en la tasa de resistencia mayor de 6400 veces	Augustin <i>et al</i> , 2004
<i>Heliothis armigera</i>	Algodón (Cry1Ac)	Resistencia es recesiva	Bird y Akhurst, 2004, Bird y Akhurst, 2005
<i>Epiphyas postvittana</i>	Manzano y trébol blanco	La presencia de resistencia cruzada entre dos toxinas no es importante	Caprio y Suckling, 2000
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac)	El costo asociado con la evolución de resistencia en <i>P. gossypiella</i> es muy elevado (51.5%)	Carriere <i>et al</i> , 2001b y d
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Maíz (Cry1Ab)	Niveles de resistencia en laboratorio a la 7 generación de 14 veces, y a la 9 de 13 y 32 veces para 3 cepas diferentes.	Chaufaux <i>et al</i> , 2001
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Maíz (Cry1Ab)	Mezclar semillas de maíz-Bt con semillas de maíz no transgénico, reduce el riesgo de resistencia	Davis <i>et al</i> , 2005
<i>Sesamia nonagrioides</i> , <i>Ostrinia nubilalis</i>	Maíz (Cry1Ab)	En un estudio de 5 años, no se observó resistencia en ambas especies, sólo cambios en susceptibilidad	Farinós <i>et al</i> , 2004

Tabla 8 (cont.)

INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Helicoverpa armigera</i>	Algodón (Cry1Ac)	Selección de resistencia en F ₁₂ disminuyó sobrevivencia desde 34 a 72%. En generación 42 hubo resistencia de 1680-1780 veces	Fengxia <i>et al</i> , 2004
<i>Heliothis virescens</i>	Algodón (Cry1Ac)	La interrupción de un gen de caderina induce resistencia. El análisis del DNA de los heterocigotos podría detectar alelos recesivos	Gahan <i>et al</i> , 2007 y b.
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac)	Larvas resistentes al algodón Bt son más susceptibles al nemátodo <i>Steinernema riobrave</i>	Gassman <i>et al</i> , 2006
<i>Chrysomela tremulae</i>	Alamo (Cry3Aa)	La estrategia de altas dosis de toxinas de Bt representa una herramienta viable para evitar la resistencia en esta plaga	Genissel <i>et al</i> , 2000
<i>Chrysomela tremulae</i>	Alamo (Cry3Aa)	La estrategia de altas dosis de toxinas es dependiente de la frecuencia inicial de alelos resistentes	Genissel <i>et al</i> , 2003
<i>Heliothis virescens</i>	Algodón (Cry1Ac y Cry2Ab)	Es menor el daño ocasionado en plantas que expresan ambas toxinas que las que expresan solamente la Cry1Ac	Gore <i>et al</i> , 2003
<i>Heliothis virescens</i>	Algodón (Cry1Ac)	En generaciones F ₁ y F ₂ , frecuencia en campo de alelos de resistencia más alta de lo esperado	Gould <i>et al</i> , 1997
<i>Heliothis virescens</i> , <i>Helicoverpa zea</i> , y <i>Spodoptera frugiperda</i>	Algodón (Cry1Ac y Cry2Ab)	Se observó un efecto interactivo aditivo entre las dos toxinas, lo cual se podría utilizar en el manejo de resistencia	Greenplate <i>et al</i> , 2003
<i>Helicoverpa armigera</i>	Algodón Ingard (Cry1Ac)	Resistencia de 275 veces, herencia autosómica y semidominante	Gunning <i>et al</i> , 2005
<i>Heliothis virescens</i> , <i>Pectinophora gossypiella</i> , <i>Spodoptera exigua</i> , <i>Helicoverpa zea</i> , <i>Spodoptera frugiperda</i> , <i>T. ni</i> , <i>Pseudoplusia includens</i> , <i>Lygus hesperus</i> .	Algodón (Cry1Ac)	Modelo de predicción de resistencia. En los estenófagos (<i>H. virescens</i> y <i>P. gossypiella</i>) es más probable que desarrollen resistencia que los polífagos (<i>H. zea</i> , <i>S. exigua</i> , <i>P. includens</i>)	Gutierrez <i>et al</i> , 2006

Tabla 8 (cont.)

INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Helicoverpa armigera</i>	Algodón (Cry1Ac)	En la generación 12 niveles de resistencia de 580 veces	Fengxia <i>et al</i> , 2004
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac)	Los machos resistentes tienden a aparearse menos, posible disminución de esperma (mutaciones en gen de caderina)	Higginson <i>et al</i> , 2005
<i>Helicoverpa zea</i>	Maíz MON810 (Cry1Ab)	La disminución de adultos del maíz-Bt, podría afectar la sincronía de apareamiento en adultos de otros cultivos y causar resistencia	Horner <i>et al</i> , 2003 a y b
<i>Ostrinia nubilalis</i> (Hübner),	Maíz MON810, Bt11, o 176Bt (Cry1Ab)	Larvas de <i>O. nubilalis</i> resistentes a Dipel, no sobreviven en los 3 híbridos transgénicos	Huang <i>et al</i> , 2002b
<i>Diatraea saccharalis</i>	Maíz (Cry1Ab)	La resistencia reside en un alelo recesivo en un solo locus	Huang <i>et al</i> , 2007
<i>Helicoverpa zea</i>	Algodón (Bollgard, Cry1Ac y Bollgard II Cry1Ac + Cry2Ab)	La aspersión de Bollgard II con piretroides podría usarse como estrategia para prevenir resistencia	Jackson <i>et al</i> , 2004
<i>Helicoverpa. armigera</i>	Algodón (Cry1Ac)	La resistencia en <i>H. armigera</i> podría incrementarse 10 veces después de 23 generaciones cuando se utilizan PT-Bt	Lu <i>et al</i> , 2004
Invasión de insectos resistentes en poblaciones susceptibles (Modelo)	Plantas Bt-transgénicas	Hay una ambigüedad en la respuesta del sistema planta-Bt-insecto susceptible, que hace difícil las predicciones	Medvinsky <i>et al</i> , 2004
<i>Diabrotica barberi</i>	Maíz (Cry1Ab)	Una diapausa extendida disminuye el riesgo de resistencia al aportar alelos susceptibles, pero puede aumentarla al proporcionar tiempo de recuperación al insecto	Mitchell y Onstad, 2005
<i>Plutella xylostella</i>	Canola (Cry1Ac)	Las larvas resistentes no se afectaron en comportamiento y sobrevivencia	Ramachandran <i>et al</i> , 1998a
<i>Plutella xylostella</i>	Canola (Cry1Ac)	No funciona en este insecto mezclar semillas transgénicas y no transgénicas	Ramachandran <i>et al</i> , 1998b

Tabla 8 (cont.)

INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Plutella xylostella</i>	Canola (Cry1Ac)	Si no hay suficiente expresión de toxina Cry para matar heterocigotos, la estrategia de refugio de altas dosis podría no ser efectiva	Sayyed <i>et al</i> , 2003
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac)	Fijar el área de cultivo del algodón-Bt y distribuir uniforme y cercanamente los refugios, baja el riesgo de resistencia	Sisterson <i>et al</i> , 2005
<i>Plutella xylostella</i> , <i>Trichoplusia ni</i> , <i>Helicoverpa zea</i> , <i>Spodoptera exigua</i>	Canola (Cry1Ac)	Control total con los lepidópteros especialistas y <i>H. zea</i> , pero correlación negativa entre defoliación y expresión de proteína Cry con <i>S. exigua</i>	Stewart <i>et al</i> , 1996a
<i>Helicoverpa zea</i> , <i>Spodoptera frugiperda</i> , <i>Spodoptera exigua</i>	Algodón (Cry1Ac + Cry2Ab)	El uso de plantas que expresen dos toxinas disminuye el riesgo de resistencia y es más efectivo para el control	Stewart <i>et al</i> , 2001
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Maíz (Cry1Ab)	La frecuencia de los alelos de resistencia es lo suficientemente baja para que la estrategia de refugios de altas dosis sea efectiva	Stodola <i>et al</i> , 2006
Diversas especies de insectos plaga	Varias plantas Bt-transgénicas	La pérdida de la proteína BRE-5 (β -1,3-galactosiltransferasa) genera resistencia	Stokstad, 2001
<i>Helicoverpa zea</i>	Algodón (Cry1Ac)	La dominancia y frecuencia de los alelos resistentes tienen el mayor impacto en la evolución de resistencia	Storer <i>et al</i> , 2003a
<i>Helicoverpa zea</i>	Algodón (Cry1Ac) y Maíz (Cry1Ab)	El uso de sistemas modelos predice que la resistencia es más intensa en algodón que en maíz	Storer <i>et al</i> , 2003b
<i>Diabrotica virgifera</i>	Maíz (Cry34Ab1 y Cry35Ab1)	Refugios del 20% disminuirían el desarrollo de resistencia	Storer <i>et al</i> , 2006
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac + Cry2Ab)	El insecto resistente a la Cry1Ac no presentó resistencia cruzada a la Cry2Ab, al cual fue susceptible	Tabashnik <i>et al</i> , 2002a

Tabla 8 (cont.)

INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac)	Resistencia inducida en laboratorio de 300 a 3100 veces, se hereda de forma autosómica	Tabashnik <i>et al</i> , 2002, 2003
<i>Ostrinia nubilalis</i> , <i>P. gossypiella</i> , <i>H. armigera</i> , <i>Helicoverpa zea</i>	Diferentes plantas transgénicas con Bt	No desarrollo de resistencia a nivel de campo.	Tabashnik <i>et al</i> , 2003a
<i>Heliothis virescens</i> , <i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac)	Concentraciones de toxinas lo suficientemente elevadas para matar a todos los heterocigotos, desminuyen la posibilidad de resistencia	Tabashnik <i>et al</i> , 2004
Varios lepidópteros plaga	Plantas transgénicas de Bt	Esta plantas causan efectos adversos en los insectos resistentes	Tabashnik <i>et al</i> , 2004b
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac)	Resistencia radica en el gen de la cadherina y es recesiva	Tabashnik <i>et al</i> , 2004a, 2005
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Algodón (Cry1Ac)	La resistencia se perdió después de 8 años de usar el algodón Bt, debido a su recesividad, que fue incompleta y el costo al adquirirla	Tabashnik <i>et al</i> , 2005a y b
<i>Heliothis virescens</i>	Algodón (Cry1Ac)	La estrategia de refugio en altas dosis, es subóptima y según un modelo predictivo es mejor la de refugios de dosis bajas	Vacher <i>et al</i> , 2003
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Maíz (Cry1Ab)	Para prevenir resistencia es importante considerar la presión local de la plaga y las prácticas agrícolas específicas de cada región	Vacher <i>et al</i> , 2006
<i>Spodoptera exigua</i> , <i>Heliothis virescens</i> y <i>Manduca sexta</i> .	Tabaco (Cry1Ab) Tomate (Cry1Ac)	La fusión de dos proteínas Cry, amplía el rango de eficiencia y previene el desarrollo de resistencia	van der Salm <i>et al</i> , 1994
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Maíz (Cry1Ab)	Es necesario monitorear tempranamente a nivel de campo la frecuencia de alelos resistentes	Venette <i>et al</i> , 2000
<i>Helicoverpa zea</i> , <i>Pseudoplusia includens</i> y <i>Heliothis virescens</i>	Soya (Cry1Ac + 2 QTL)	Efecto aditivo entre el gene cry y un QTL para prevenir resistencia en las 3 plagas	Walker <i>et al</i> , 2004
<i>Chrysomela tremulae</i>	Alamo (Cry3Aa)	Resistencia detectable con la medición de frecuencia de alelos resistentes	Wenes <i>et al</i> , 2006

Tabla 8 (cont.)

INSECTO	CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
<i>Helicoverpa armigera</i>	Algodón (Cry1Ac)	La proporción del área de los refugios es primordial para mantener la susceptibilidad	Wu <i>et al</i> , 2002
<i>Helicoverpa armigera</i>	Algodón (Cry1Ac)	Reversión de resistencia hacia los insecticidas químicos	Wu <i>et al</i> , 2005 y 2005a
<i>Helicoverpa armigera</i>	Algodón (Cry1Ac)	No hubo variación en susceptibilidad en un periodo de 7 años	Wu <i>et al</i> , 2006
<i>Plutella xylostella</i>	Brócoli (Cry1C)	A las 26 generación niveles de resistencia de 12,400 y 63,100 veces	Zhao <i>et al</i> , 2000
<i>Plutella xylostella</i>	Brócoli (Cry1C)	Resistentes a Cry1C, pero hubo diferencias en la resistencia cruzada con otras toxina de Bt	Zhao <i>et al</i> , 2001
<i>Plutella xylostella</i>	Brócoli (Pirámide Cry1C y Cry1Ac)	Después de 24 generaciones los niveles de resistencia bajaron significativamente	Zhao <i>et al</i> , 2003, Zhao <i>et al</i> , 2005

dicha resistencia, y de esa forma contar con el conocimiento básico que permita no sólo entender el mecanismo, sino utilizarlo para mejorar las estrategias en el campo. En la Tabla 8 se muestran algunos reportes sobre estos casos, así como sobre la eficiencia de las estrategias que se han seguido para manejar la resistencia en las plagas.

EFFECTOS SECUNDARIOS SOBRE EL METABOLISMO

Finalmente, se han realizados estudios acerca del posible efecto que la expresión de los genes *cry* en los cultivos Bt pudieran tener sobre el metabolismo de la planta transformada. Es decir, a pesar de que las plantas Bt sólo contienen uno (o dos) genes *cry*, adicionales al contenido genómico de la planta original, lo cual contrasta con los miles de genes que normalmente se introducen en el desarrollo de nuevas variedades de plantas, cuando se usa el mejoramiento genético tradicional, aún así es importante estudiar si la incorporación de un nuevo gene al genoma de la planta podría traer consigo otros efectos, diferentes a los de la resistencia al ataque de los insectos susceptibles a las proteínas Cry. Existen en todos los seres vivos genes que tienen efecto sobre varias características del individuo. Este fenómeno es conocido como pleiotropía el cual, aunque poco frecuente, se debe considerar en este tipo de estudios. En otras palabras, los genes *cry* introducidos en las plantas transformadas podrían presentar un efecto secundario sobre el metabolismo de la planta. En el peor de los casos, esos posibles efectos secundarios podrían causar algún daño a la planta, como reducción en su rendimiento, disminución de los mecanismos de defensa a otras plagas, incremento a la susceptibilidad a condiciones adversas del medio ambiente, etc. De ahí la importancia de estos estudios. En la Tabla 9 se presentan los reportes más relevantes sobre este tema, de los cuales se desprende que todavía se requieren de más estudios sobre temas específicos, como su efecto en el metabolismo del nitrógeno y la formación de más lignina. Este último caso es el más estudiado y mejor documentado, donde extrañamente se incrementa la formación de esta sustancia que da más rigidez a las células de la planta. Esta diferencia sólo se puede detectar si se realizan los análisis químicos apropiados, ya que no es obvia a la vista ni el tacto de la planta. Otros efectos secundarios que se han detectado en las plantas transformadas con los genes *cry* de *B. thuringiensis* tienen que ver con la disminución en la presencia de una micotoxina (dañina a vertebrados), cuando estas plantas son atacadas por el hongo que las produce. También, otro cambio favorable asociado a la expresión del gene *cry* es el incremento en el tamaño del hilo producido por el algodón Bt. Estos casos deberán ser sujetos a estudios más amplios, con el objeto de corroborar si se deben directamente al gene *cry* que se integró al genoma de la planta, o son sólo efectos secundarios provenientes de la selección que se realizó para obtener la variedad comercial. Independientemente de estos posibles cambios, ninguno está relacionado a alguna característica deletérea.

CONCLUSIÓN

En conclusión, la revisión de los reportes relacionados a los riesgos de liberar cultivos Bt al campo, tanto sobre la salud humana y de los animales domésticos, así como sobre el medio ambiente, indican que éstos son bajos o nulos. Algunos aspectos de salud, sobre todo aquellos relacionados con la alergenicidad de las proteínas Cry, deberán seguirse revisando en forma periódica, a pesar de que las evidencias, apoyadas por estudios confiables y bien documentados, indican que no se han desarrollado alergias en la

Tabla 9. Reportes relevantes acerca del efecto de la expresión de los genes cry en los cultivos Bt, sobre diferentes aspectos metabólicos y del ciclo de vida de la plata.

CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
Maíz (Cry1Ab)	La toxina Cry1A se expresa mayoritariamente en hojas con mayor contenido de clorofila, los factores que la regulan pueden influir.	Abel y Adamczyk, 2004
Maíz (Cry1Ab)	Mayor protección del maíz al ataque de <i>Fusarium</i> y en consecuencia en la producción de fuminosinas	Bakan <i>et al</i> , 2002
Algodón (Cry1Ac)	Mayor producción con el algodón Bt	Cataneo <i>et al</i> , 2006
Algodón (Cry1Ac)	La producción de toxina se afectó por la interacción entre CO ₂ y N. Elevadas concentraciones de CO ₂ afectaron la distribución de los compuestos de defensa y se podría afectar la interacción planta-herbívoro	Coviella <i>et al</i> , 2002
Algodón (Cry1Ac)	Elevadas temperaturas degradan la proteína soluble presente en las hojas	Chen <i>et al</i> , 2005
Maíz DKC61-25 (Cry1Ab)	No hay cambios en los mecanismos o rutas bioquímicas de defensa	Dean y De Moraes 2006
Maíz (Cry1Ab)	Reducción en la producción de fuminosinas en un 40%	De la Campa <i>et al</i> , 2005
Maíz (Cry1Ab)	Menor niveles de fuminosinas en el maíz-Bt (1-8 a 15 veces), pero suficientes para bajar indirectamente los niveles de micotoxinas	Dowd, 2001
Maíz MON-863 (Cry-Bb1)	El contenido nutricional del maíz MON-863 es muy similar al del maíz convencional (fibra, aminoácidos, ácidos grasos, minerales, ácido fólico, tiamina, riboflavina, vitamina E, antinutrientes y metabolitos secundarios)	George <i>et al</i> , 2004
Maíz (Cry1Ab)	Solo se observaron diferencias en la proporción carbono: nitrógeno.	Griffiths <i>et al</i> , 2007
Canola <i>Brassica napus</i> (Cry1Ac) x <i>Brassica rapa</i>	Los transgenes de las plantas transformadas fluyen de manera natural hacia otras especies silvestres	Halfhill <i>et al</i> , 2002
Canola <i>Brassica napus</i> (Cry1Ac) x <i>Brassica rapa</i>	Los híbridos transgénicos o no transgénicos, fueron menos competitivos y productivos que su líneas parentales de <i>Brassica</i> , transgénicas o silvestres.	Halfhill <i>et al</i> , 2005
Algodón Bollgard II	Tanto las semillas como el aceite poseen componentes muy similares a las variedades comerciales	Hamilton <i>et al</i> , 2004
Maíz (Cry1Ab)	Los híbridos transgénicos producen menores cantidades de fuminosina (<2 ppm) (una micotoxina)	Hammond <i>et al</i> , 2004

Tabla 9 (cont.)

CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
Maíz TC6275 (Cry1Fb)	No hubo diferencias en ácidos grasos, aminoácidos, vitaminas, metabolitos secundarios y producción de antinutrientes	Herman <i>et al</i> , 2004
Maíz DAS-59122-7 (Cry34Ab1 y Cry35Ab1)	No existen diferencias en los componentes nutricionales	Herman <i>et al</i> , 2007
Algodón (Cry1Ac)	Expresión diferencial de la toxina Cry, siendo mayor en hojas que en cuadros y flores. La expresión de la toxina decrece conforme la edad de la planta se incrementa.	Kranthi <i>et al</i> 2005a
Maíz (Cry1Ac)	Hubo variaciones metabólicas relacionadas con la ruta primaria del nitrógeno, afectando principalmente osmolitos y aminoácidos ramificados	Mannetti <i>et al</i> , 2006
Algodón (Cry1Ac & Cry2Ab)	Las características agronómicas y niveles de producción fueron mayores o similares a los de la línea parental	Marchosky <i>et al</i> , 2001
Algodón (Cry1Ac)	Cambios en la eficiencia de la planta se deben a cambios fisiológicos más que a la expresión de las toxinas Cry	Olsen <i>et al</i> , 2005
Maíz (Cry1Ab)	El polen se deposita en un 30%-50% menos en las hojas superiores que en las centrales	Pleasants <i>et al</i> , 2001
Maíz (Cry1Ab)	Incremento en las concentraciones de ligninas en tallo, pero no en hojas	Poerschmann <i>et al</i> , 2004
Híbridos de <i>Brassica napus</i> (Cry1Ac) x <i>B. rapa</i>	En ausencia de herbivoría, los híbridos producen 6.2 veces menos semillas y en presencia, producen 1.4 veces más semillas que la planta silvestre	Vacher <i>et al</i> , 2004
Algodón (Cry1Ac)	Se incrementó la producción de hilo en un 6.7 a 11.8%	Verhalen <i>et al</i> , 2003
Algodón (Cry1Ac/Cry1Ab fusionadas)	Altas cantidades de toxina en las etapas tempranas, disminuían en la etapa intermedia y aumentaban en las etapas finales de crecimiento.	Wan <i>et al</i> , 2005
Arroz (Cry1Ab)	El transgene se hereda de manera estable en la progenie y la expresión de la proteína es mayor en hojas y tallos, que en grano	Wu <i>et al</i> , 2002
Maíz (Cry1Ab)	Menor producción de las micotoxinas fumosina y aflatoxinas	Wu, 2006
Maíz (Cry1Ab)	Composición química y digestibilidad no fue significativamente diferente al de la variedad comercial	Reuter <i>et al</i> , 2002
Maíz (Cry1Ab)	Diferentes híbridos de maíz-Bt poseen significativamente un mayor contenido de ligninas (33–97%)	Saxena y Stotzky, 2001a

Tabla 9 (cont.)

CULTIVO Bt	EFEECTO	REFERENCIA
Maíz (Cry1Ab), Papa (Cry3A), Arroz (Cry1Ab), Canola, Algodón y Tabaco(Cry1Ac).	La biomasa de todas las plantas transgénicas se descompone menos que sus líneas isogénicas y solamente el maíz tuvo un mayor contenido de ligninas	Stotzky, 2004
Maíz (Bt11, N4640Bt)	Emisión de los mismos compuestos volátiles que al silvestre, pero significativamente en menor cantidad	Turlings <i>et al</i> , 2005
Maíz MON863 (Cry3Bb1) Maíz MON810 (Cry1Ab) Maíz YieldGard Plus (MON810 × MON863)	No hay diferencias significativas en el contenido nutricional con respecto a las líneas isogénicas sin transformar	Tylor <i>et al</i> , 2003
Algodón New Cott 33B	El polen transgénico se dispersa a una distancia no mayor de 50 m	Zhang <i>et al</i> , 2005

población humana. En lo que respecta a la posible transferencia del gene *cry* a otras plantas, será necesario analizar caso por caso, especialmente la posibilidad de transferencia del gene al teocintle en nuestro país, así como el análisis de las posibles consecuencias, en caso de que esto ocurra. También, a pesar de que el efecto dañino hacia las poblaciones de insectos no blanco es mínimo o nulo, se deberá continuar con las observaciones sobre casos específicos. Esto sobre todo porque recientemente se han reportado efectos de proteínas Cry con un rango más amplio de lo que se creía. Afortunadamente, esta ampliación incluyó a otras plagas, y no a enemigos naturales de éstas. De la misma forma, habrá que continuar con el monitoreo de las plagas sujetas a presión de selección de los cultivos Bt, con el objeto de detectar cualquier posible brote de resistencia en alguna región específica. Finalmente, hasta la fecha, se puede afirmar que los cultivos Bt ofrecen una alternativa viable y segura para contrarrestar el efecto pernicioso de las plagas de insectos. Su utilización disminuye las aplicaciones de insecticidas químicos en el campo, cuyo efecto dañino a la salud humana, la de los animales domésticos y al medio ambiente, son ampliamente conocidos. La transgénesis sigue ofreciendo alternativas importantes para la resolución de muchos problemas agrícolas del mundo, en general, y de nuestro país, en particular. Cerrarse a esta posibilidad implicaría cerrarse al desarrollo tecnológico de nuestra época, con el consecuente retraso económico y social. Es responsabilidad de la comunidad científica no sólo promover el desarrollo de estas nuevas tecnologías, sino también evaluar sus beneficios y posibles riesgos. Es responsabilidad de los gobiernos salvaguardar la seguridad, la salud y el entorno de sus gobernados. También es deber de los gobiernos promover el desarrollo tecnológico que permita mejorar las condiciones de vida de sus gobernados. La confluencia de estas dos premisas se hace tangible en el uso de las plantas transgénicas, como alternativa para el mejoramiento de la agricultura en México.

LITERATURA CITADA

- Abel C, Adamczyk, J (2004). Relative concentration of Cry1A in maize leaves and cotton bolls with diverse chlorophyll content and corresponding larval development of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae) on maize whorl leaf profiles. *Journal Economic Entomology* 97: 1737-1744.
- Accinelli C, Koskinen WC, Sadowsky MJ. (2006). Influence of Cry1Ac toxin on mineralization and bioavailability of glyphosate in soil. *J Agric Food Chem.* 54(1): 164-169.
- Addison JA, Holmes SB. (1995). Effect of two commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Dipel R 8L and Dipel R 8AF) on the collembolan species *Folsomia candida* in a soil microcosm study. *Bull. Environ. Contam. Toxic.* 55: 771-778.
- Aeschbacher K, Messikommer R, Meile L, Wenk C. (2005). Bt176 corn in poultry nutrition: physiological characteristics and fate of recombinant plant DNA in chickens. *Poult Sci.* 84(3): 385-394.
- Ahmad A, Wilde GE, Whitworth RJ, Zolnerowich G. (2006). Effect of corn hybrids expressing the coleopteran-specific cry3Bb1 protein for corn rootworm control on aboveground insect predators. *J Econ Entomol.* 99(4): 1085-95.
- Al Debb M, Wilde GE and Higgins RA (2001). No effect of *Bacillus thuringiensis* corn and *Bacillus thuringiensis* on the predator *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Environmental Entomology* 30: 625-629.
- Ali MI, Lutrell RG and Young SY 3rd. (2006). Susceptibilities of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) populations to Cry1Ac insecticidal protein. *J Econ Entomol.* 99(1): 164-175.
- Alinia F, Ghareyazie B, Rubia L, Bennett J, Cohen MB. (2000). Effect of plant age, larval age, and fertilizer treatment on resistance of a cry1Ab-transformed aromatic rice to lepidopterous stem borers and foliage feeders. *J Econ Entomol.* 93(2): 484-493.
- Alves AP, Spencer TA, Tabashnik BE, Siegfried BD. (2006). Inheritance of resistance to the Cry1Ab *Bacillus thuringiensis* toxin in *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *J Econ Entomol.* 99(2): 494-501.
- Armer C, Berry R, Kogan M. (2000). Longevity of phytophagous heteropteran predators feeding on transgenic Bt-potato plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 95: 329-333.
- Augustin S, Courtin C, Rejasse A, Lorme P, Genissel A, Bourguet D. (2004). Genetics of resistance to transgenic *Bacillus thuringiensis* poplars in *Chrysomela tremulae* (Coleoptera: Chrysomelidae). *J Econ Entomol.* 97(3): 1058-1064.
- Bai Y., Jiang MX and Cheng, JA (2005). Effects of transgenic cry1Ab rice pollen on fitness of *Propylea japonica* (Thunberg). *Journal of Pest Science* 78: 123-128.
- Bai Y., Jiang MX, Cheng, JA, Wang, D (2006). Effects of Cry1Ab toxin on *Propylea japonica* (Thunberg) (Coleoptera: Coccinellidae) Through Its Prey, *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae), feeding on transgenic Bt rice. *Environmental Entomology* 35: 1130-1136.
- Bakan B, Melcion D, Richard-Molard D, Cahagnier B. (2002). Fungal growth and fusarium mycotoxin content in isogenic traditional maize and genetically modified maize grown in France and Spain. *J Agric Food Chem.* 50(4): 728-731.

- Baumgarte S, Tebbe C (2005). Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. *Molecular Ecology* 14: 2539-2551.
- Bernal CC, Aguda RM, Cohen MB (2002). Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102: 21-28.
- Bernstein JA, Bernstein IL, Bucchini L., Goldman LR, Hamilton RG, Lehrer S, Rubin C, Sampson HA. (2003). Clinical and laboratory investigation of allergy to genetically modified foods. *Environ Health Perspect.* 111(8): 1114-1121.
- Bird LJ, Akhurst RJ. (2004). Relative fitness of Cry1A-resistant and -susceptible *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on conventional and transgenic cotton. *J. Econ Entomol* 97(5): 1699-1709.
- Bird LJ, Akhurst RJ. (2005). Fitness of Cry1A-resistant and -susceptible *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic cotton with reduced levels of Cry1Ac. *J Econ Entomol.* 98(4): 1311-1319.
- Bishop AH, Johnson C, Perani M. (1999). The safety of *Bacillus thuringiensis* to mammals investigated by oral and subcutaneous dosage. *World J. Microbiol. Biotech.* 15: 375-380.
- Blackwood C, Buyer J. (2004). Soil microbial communities associated with Bt and non-Bt corn in three soils. *Journal of Environmental Quality* 33: 832-836.
- Bourguet D, Chaufaux J, Micoud A, Delos M, Naibo B, Bomabarde F, Marque G Eychenne N, Pagliari C. (2002). *Ostrinia nubilalis* parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn (*Zea mays*). *Environmental Biosafety Research* 1: 49-60.
- Brake J, Faust MA, Stein J. (2003). Evaluation of transgenic event Bt11 hybrid corn in broiler chickens. *Poult Sci.* 82(4): 551-559.
- Brake DG, Thaler R, Evenson DP. (2004). Evaluation of Bt (*Bacillus thuringiensis*) corn on mouse testicular development by dual parameter flow cytometry. *J Agric Food Chem.* 52(7): 2097-2102.
- Brake J, Faust M, Stein J. (2005). Evaluation of transgenic hybrid corn (VIP3A) in broiler chickens. *Poult Sci.* 84(3): 503-512.
- Candolfi M, Brown K, Grimm C, Reber B, Schmidli, H (2004). A faunistic approach to assess potential side-effects of genetically modified *Bt*-corn on non-target arthropods under field conditions. *Biocontrol Science and Technology* 14: 129-170.
- Caprio MA, Suckling DM. (2000). Simulating the impact of cross resistance between Bt toxins in transformed clover and apples in New Zealand. *J Econ Entomol.* 93(2): 173-179.
- Carriere Y, Eilers Kirck C, Liu YB, Sims MA, Patin AL, Dennehy TJ, Tabashnik BE. (2001a). Fitness costs and maternal effects associated with resistance to transgenic cotton in the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Econ Entomol.* 94(6): 1571-1576.
- Carriere Y, Eilers Kirck C, Patin AL, Sims MA, Meyer S, Liu YB, Dennehy TJ, Tabashnik BE. (2001b). Overwintering cost associated with resistance to transgenic cotton in the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Econ Entomol.* 94(4): 935-941.
- Castaldini M, Turrini A, Sbrana C, Benedetti A, Marchionni M, Mocali S, Fabiani A, Landi S, Santomassimo F, Pietrangeli B, Nuti MP, Miclaus N, Giovannetti M. (2005). Impact of *Bt* corn on rhizospheric and soil eubacterial communities and on

- beneficial mycorrhizal symbiosis in experimental microcosms. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 6719-6729.
- Casida LE Jr. (1989). Protozoan response to the addition of bacterial predators and other bacteria to soil. *Appl. Environ. Microbiol* 55: 1857-1859.
- Cattaneo MG, Yafuso C., Schmidt C, Huang CY, Rahman M, Olson C, Ellers-Kirk C, Orr BJ, Marsh SE, Antilla L, Dutilleul P, Carriere Y. (2006). Farm-scale evaluation of the impacts of transgenic cotton on biodiversity, pesticide use, and yield. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103(20): 7571-7576.
- Coviella CE, Stipanovic R, Trumble JT. (2002). Plant allocation to defensive compounds: interactions between elevated CO(2) and nitrogen in transgenic cotton plants. *J Exp Bot*. 53(367): 323-331.
- Chaufaux J, S. M., Swanson JJ, Bourguet D, Siegfried BD. (2001). Chronic exposure of the european corn borer (Lepidoptera: Crambidae) to Cry1Ab *Bacillus thuringiensis* toxin. *J Econ Entomol*. 94(6): 1564-1570.
- Chen, D, Ye G, Yang C, Chen Y, Wu Y (2005). The effect of high temperature on the insecticidal properties of Bt cotton. *Environmental and Experimental Botany* 53: 333-342.
- Chowdhury EH, Kuribara H, Hino A, Sultana P, Mikami O, Shimada N, Guruge KS, Saito M, Nakajima Y. (2003). Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. *J Anim Sci*. 81(10): 2546-2551.
- Damgaard PH. (1995). Diarrhoeal enterotoxin production by strains of *Bacillus thuringiensis* isolated from commercial *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *FEMS Immun. Med. Microbiol* 12: 245-250.
- Davis PM, Onstad D. (2000). Seed mixtures as a resistance management strategy for European corn borers (Lepidoptera: Crambidae) infesting transgenic corn expressing Cry1Ab protein. *J Econ Entomol*. 93(3): 937-948.
- Dean JM, De Moraes CM. (2006). Effects of genetic modification on herbivore-induced volatiles from maize. *J Chem Ecol* 32(4): 713-724.
- De la Campa R, Hooker DC, Miller JD, Schaafsma AW, Hammond BG. (2005). Modeling effects of environment, insect damage, and Bt genotypes on fumonisin accumulation in maize in Argentina and the Philippines. *Mycopathologia*. 159(4): 539-552.
- Devare M, Jones CM, Thies JE. (2004). Effect of Cry3Bb transgenic corn and tefluthrin on the soil microbial community: biomass, activity, and diversity. *Journal of Environmental Quality* 33: 837-843.
- Dively G. (2005). Impact of transgenic VIP3A x Cry1Ab Lepidopteran-resistant field corn on the nontarget arthropod community. *Environmental Entomology* 34: 12667-1291.
- Doggan E, Berry RE, Reed GL, Rossignol PA. (1996). Biological parameters of convergent lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on aphids (Homoptera: Aphididae) on transgenic potato. *Journal of Economic Entomology* 89: 1105-1108.
- Donegan KK, Schaller DL, Stone JK, Ganio LM, Reed G, Hamm PB, Seidler RJ. (1996). Microbial populations, fungal species diversity and plant pathogen levels in field plots of potato plants expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* endotoxin. *Transgenic Res*. 5: 25-35.

- Douville M, Gagne F, Blaise C, Andre C. (2007). Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment. *Ecotoxicol Environ Saf.* 66(2): 195-203.
- Dowd P. (2001). Biotic and abiotic factors limiting efficacy of Bt corn in indirectly reducing mycotoxin levels in commercial fields. *J Econ Entomol.* 94(5): 1067-1074.
- Duggan PS, Chambers PA, Heritage J, Michael Forbes J. (2003). Fate of genetically modified maize DNA in the oral cavity and rumen of sheep. *Br J Nutr.* 89(2): 159-166.
- Dutton A, Klein H, Romeis J, Bigler F. (2002). Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology* 27: 441-447.
- Eizaguirre, M. Albajes R., Lopez C, Eras J, Lumbierres B, Pons X. (2006). Six years after the commercial introduction of Bt maize in Spain: field evaluation, impact and future prospects. *Transgenic Research* 15: 1-12.
- Fares NH, El-Sayed AK. (1998). Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes. *Nat Toxins.* 6(6): 219-233.
- Farinós G, Poza M, Hernández-Crespo P, Ortego F, Castañera P (2004). Resistance monitoring of field populations of the corn borers *Sesamia nonagrioides* and *Ostrinia nubilalis* after 5 years of Bt maize cultivation in Spain. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 110: 23-30.
- Fengxia M, Shen J, Zhou W, Cen H (2004). Long-term selection for resistance to transgenic cotton expressing *Bacillus thuringiensis* toxin in *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag Sci.* 60(2): 167-172.
- Ferry N, Mulligan EA, Stewart CN, Tabashnik BE, Port GR, Gatehouse AM (2006). Prey-mediated effects of transgenic canola on a beneficial, non-target, carabid beetle. *Transgenic Res.* 15(4): 501-514.
- Ferry N, Mulligan EA, Majerus ME, Gatehouse AM. (2007). Bitrophic and tritrophic effects of Bt Cry3A transgenic potato on beneficial, non-target, beetles. *Transgenic Res.* In press.
- Folmer JD, Grant RJ, Milton CT, Beck J. (2002). Utilization of Bt corn residues by grazing beef steers and Bt corn silage and grain by growing beef cattle and lactating dairy cows. *J Anim Sci.* 80(5): 1352-1361.
- Gahan LJ, Gould F, Lopez JD Jr, Micinski S, Heckel DG (2007a) A polymerase chain reaction screen of field populations of *Heliothis virescens* for a retrotransposon insertion conferring resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin. *J Econ Entomol.* 100(1): 187-194.
- Gahan LJ, Gould F, Heckel DG. (2007b) Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*. *Science.* 293(5531): 857-860.
- Gassmann AJ, Stock SP, Carriere Y, Tabashnik BE. (2006). Effect of entomopathogenic nematodes on the fitness cost of resistance to Bt toxin cryIac in pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Econ Entomol.* 99(3): 920-926.
- Gatehouse AM, Ferry N, Raemaekers RJ. (2002). The case of the monarch butterfly: a verdict is returned. *Trends Genet.* 18(5): 249-251.
- Genissel A, Viard F, Bourguet D. (2000). Population genetics of *Chrysomela tremulae*: a first step towards management of transgenic *Bacillus thuringiensis* poplars *Populus tremula* x *P. tremuloides*. *Hereditas* 133(2): 85-93.

- Genissel A, Augustin S, Courtin C, Pilate G, Lorme P, Bourguet D, Indurker S, Eapen S. (2003). Initial frequency of alleles conferring resistance to *Bacillus thuringiensis* poplar in a field population of *Chrysomela tremulae*. *Proc Biol Sci.* 270(1517): 791-797.
- George C, Ridley WP, Obert JC, Nemeth MA, Breeze ML, Astwood JD. (2004). Composition of grain and forage from corn rootworm-protected corn event MON 863 is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). *J Agric Food Chem.* 52(13): 4149-4158.
- Giddings G, Mytton L, Griffiths M, McCarthy A, Morgan C, Skot L. (1997). A secondary effect of transformation in *Rhizobium leguminosarum* transgenic for *Bacillus thuringiensis* subspecies *tenebrionis* delta-endotoxin (cryIIIa) genes. *Theor. Appl. Genet.* 95: 1062-1068.
- Gore J, Leonard BR, Gable RH. (2003). Distribution of bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie), injured reproductive structures on genetically engineered *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Berliner cotton. *J Econ Entomol.* 96(3): 699-705.
- Gould F, Anderson A, Jones A, Sumerford DV, Heckel DG, Lopez J, Micinsk S, Leonard R, Laster M (1997). Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 94: 3519-3523.
- Green M, Heumann M, Sokolow E, Foster LR, Skeels M. (1990). Public health implications of the microbial pesticide *Bacillus thuringiensis*: an epidemiological study. Oregon, 1985-86. *Amer. J. Public Health* 80: 848-852.
- Greener A, Candy SG. (1994). Effect of the biotic insecticide *Bacillus thuringiensis* and a pyretroid on survival of predators of *Chrysophtharta bimaculata* (Olivier) (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Aust. Entomol. Soc.*, 33: 321-324.
- Greener A, Candy SG. (1995). Effect of the biotic insecticide *Bacillus thuringiensis* of predators of *Chrysophtharta bimaculata*. *J. Aust. Entomol. Soc.* 34: 99-100.
- Greenplate J, Mullins JW, Penn SR, Dahm A, Reich BJ, Osborn JA, Rahn PR, Ruschke L, Shappley ZW (2003). Partial characterization of cotton plants expressing two toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: relative toxin contribution, toxin interaction, and resistance management. *Journal of Applied Entomology* 127: 340-347.
- Griffitts JS, Whitacre JL, Stevens DE, Aroian RV. (2001). Bt toxin resistance from loss of a putative carbohydrate-modifying enzyme. *Science* 293(5531): 860-864.
- Griffiths B, Caul S, Thompson J, Birch ANE, Scrimgeour C, Cortet J, Foggo A, Hackett CA, Henning Krogh P. (2006). Soil microbial and faunal community responses to Bt maize and insecticide in two soils. *Journal of Environmental Quality* 35: 734-741.
- Griffiths BS, Heckmann LH, Caul S, Thompson J, Scrimgeour C, Krogh PH. (2007). Varietal effects of eight paired lines of transgenic Bt maize and near-isogenic non-Bt maize on soil microbial and nematode community structure. *Plant Biotechnol J.* 5(1): 60-68.
- Gunning R, Dang HT, Kem FC, Nicholson IC, Moores GD. (2005). New resistance mechanism in *Helicoverpa armigera* threatens transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 2258-2563.
- Gutierrez AP, Adamczyk Jr JJ, Ponsard S, Ellis CK. (2006). Physiologically based demographics of Bt cotton pest interactions II. Temporal refuges, natural enemy interactions. *Ecological Modeling* 191: 360-382.

- Halfhill MD, Millwood RJ, Raymer P, Stewart CN. (2002). Bt-transgenic oilseed rape hybridization with its weedy relative, *Brassica rapa*. Environmental Biosafety Research 1: 19-28.
- Halfhill MD, Sutherland JP, Moon HS, Poppy GM, Warwick SI, Weissinger AK, Rufty TW, Raymer PL, Stewart CN Jr. (2005). Growth, productivity, and competitiveness of introgressed weedy *Brassica rapa* hybrids selected for the presence of Bt cry1Ac and gfp transgenes. Mol Ecol. 14(10): 3177-3189
- Hamilton KA, Pyla PD, Breeze M, Olson T, Li M, Robinson E, Gallagher SP, Sorbet R, Chen Y. (2004). Bollgard II cotton: compositional analysis and feeding studies of cottonseed from insect-protected cotton (*Gossypium hirsutum* L.) producing the Cry1Ac and Cry2Ab2 proteins. J Agric Food Chem. 52(23): 6969-6976.
- Hammond BG, Campbell KW, Pilcher CD, DeGooyer TA, Robinson AE, McMillen BL, Spangler SM, Riordan SG, Rice LG, Richard JL. (2004). Lower fumonisin mycotoxin levels in the grain of Bt corn grown in the United States in 2000-2002. J Agric Food Chem. 52(5): 1390-1397.
- Hanley AV, Huang ZY, Pett WL (2003). Effects of dietary transgenic Bt corn pollen on larvae of *Apis mellifera* and *Galleria mellonella*. Journal of Apicultural Research 42: 77-81.
- Hansen Jesse L, Obrycki J. (2000). Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. Oecologia 125: 241-248.
- Harwood J, Wallin WG, Obrycki JJ. (2005). Uptake of Bt endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. Molecular Ecology 14: 2815-2823.
- Head G, Moar W, Eubanks M, Freeman B, Ruberson J, Hagerty A, Turnipseed SG. (2005). Multiyear, large-scale comparison of arthropod populations on commercially managed Bt and non-Bt cotton fields. Environmental Entomology 34: 1257-1266.
- Heckmann L, Griffiths BS, Caul S, Thompson J, Pusztai-Carey M, Moar WJ, Andersen MN, Henning Krogh P. (2006). Consequences for *Protaphorura armata* (Collembola: Onychiuridae) following exposure to genetically modified *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize and non-Bt maize. Environmental Pollution 142: 212-216.
- Hellmich RL, Siegfried BD, Sears MK, Stanley-Horn DE, Daniels MJ, Mattila HR, Spencer T, Bidne KG, Lewis LC. (2001). Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*- purified proteins and pollen. Proc Natl Acad Sci U S A. 98(21): 11925-11930.
- Herman RA, Phillips AM, Collins RA, Tagliani LA, Claussen FA, Graham CD, Bickers BL, Harris TA, Prochaska LM. (2004). Compositional equivalency of Cry1F corn event TC6275 and conventional corn (*Zea mays* L.). J Agric Food Chem. 52(9): 2726-2734.
- Herman RA, Storer NP, Phillips AM, Prochaska LM, Windels P. (2007). Compositional assessment of event DAS-59122-7 maize using substantial equivalence. Regul Toxicol Pharmacol. 47(1): 37-47.
- Hernandez E, Ramisse F, Ducoureau JP, Cruel T, Cavallo JD. (1998). *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (serotype H34) superinfection: case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. Clin. Microbiol. 36: 2138-2139.
- Hernandez E, Ramisse F, Cruel T, Le Bagueresse R, Cavallo J.D. (1999). *Bacillus thuringiensis* serotype H34 isolated from human and insecticidal strains serotypes

- H3a3b and H14 can lead to death if immunocompetent mice after pulmonary infection. *FEMS Immun. Med. Microbiol.* 24: 43-47.
- Hilbeck A, Baumgartner M, Fried PM, Bigler F. (1998a). Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol* 27(2): 480-487.
- Hilbeck A, Moar W, Pusztai Carey M, Filippini A, Bigler F. (1998b). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental and Experimental Botany* 27: 1255-1263.
- Hilbeck A, Moar W, Pusztai Carey M, Filippini A, Bigler F. (1999). Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2a protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 305-316.
- Higginson DM, Morin S, Nyboer ME, Biggs RW, Tabashnik BE, Carriere Y. (2005). Evolutionary trade-offs of insect resistance to *Bacillus thuringiensis* crops: fitness cost affecting paternity. *Evolution Int J Org Evolution.* 59(4): 915-920.
- Hodgson J. (1999). Monarch Bt-corn paper questioned. *Nat Biotechnol.* 17(7): 627.
- Holmes SB. (1998). Reproduction and nest behaviour of Tennessee wablers *Vermivora peregrine* in forests treated with Lepidoptera-specific insecticides. *J. Appl. Ecol.* 35: 185-194.
- Hopkins DW, Gregorich EG. (2003). Detection and decay of the Bt endotoxin in soil from a field trial with genetically modified maize. *European Journal of Soil Science* 54(4): 793-800.
- Horner TA, Dively GP. (2003). Effect of MON810 Bt field corn on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) cannibalism and its implications to resistance development. *J Econ Entomol.* 96(3): 931-934.
- Horner TA, Dively GP, Herbert DA. (2003). Effects of MON810 Bt field corn on adult emergence of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol.* 96(3): 925-930.
- Hossain F, Pray CE, Lu Y, Huang J, Fan C, Hu R. (2004). Genetically modified cotton and farmers' health in China. *Int J Occup Environ Health.* 10(3): 296-303.
- Huang F, Buschman LL, Higgins RA, Li H. (2002). Survival of kansas dipel-resistant European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) on Bt and non-Bt corn hybrids. *J. Econ Entomol.* 95(3): 614-621.
- Huang J, Rozelle S, Pray C, Wang Q. (2002a). Plant biotechnology in China. *Science* 295: 674-677.
- Huang J, Hu R, Rozelle S, Pray C. (2005). Insect-resistant GM rice in farmers' fields: assessing productivity and health effects in China. *Science.* 308(5722): 688-690.
- Huang F, Leonard BR, Andow DA. (2007). Sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) resistance to transgenic *Bacillus thuringiensis* maize. *J Econ Entomol.* 100(1): 164-171.
- Jackson RE, Bradley Jr J, Van Duyn JW, Gould F. (2004). Comparative production of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) from transgenic cotton expressing either one or two *Bacillus thuringiensis* proteins with and without insecticide oversprays. *J Econ Entomol.* 97(5): 1719-1725.
- Jackson RE, Marcus MA, Gould F, Bradley JR Jr, Van Duyn JW. (2007). Cross-resistance responses of Cry1Ac-selected *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) to the *Bacillus thuringiensis* protein vip3A. *J Econ Entomol.* 100(1): 180-186.

- James RR, Miller JC, Lighthart B. (1993). *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* affects a beneficial insect, the cinnabar moth (Lepidoptera:Arctiidae). J. Econ. Entomol. 86: 334-339.
- Janmaat AF, Myers JH. (2005). The cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* varies with the host plant of *Trichoplusia ni*. Proc Biol Sci. 272(1567): 1031-1038.
- Jennings JC, Albee LD, Kolwyck DC, Surber JB, Taylor ML, Hartnell GF, Lirette RP, Glenn KC. (2003). Attempts to detect transgenic and endogenous plant DNA and transgenic protein in muscle from broilers fed YieldGard Corn Borer Corn. Poult Sci. 82(3): 371-380.
- Johnson MT, Gould F. (1992). Interaction of genetically engineered host plant resistance and natural enemies of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in tobacco. Environ. Entomol. 21: 586-597.
- Johnson KS, Scriber JM, Nitao JK, Smitley DR. (1995). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* to three nontarget Lepidoptera in field studies. Environ Entomol. 24: 288-297.
- Kain WC, Zhao JZ, Janmaat AF, Myers J, Shelton AM, Wang P. (2004). Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in a greenhouse-derived strain of cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae). J Econ Entomol. 97(6): 2073-2078.
- Kan CA, Hartnell GF. (2004). Evaluation of broiler performance when fed insect-protected, control, or commercial varieties of dehulled soybean meal. Poult Sci. 83(12): 2029-2038.
- Kranthi K, Naidu S, Dhawad CS, Tatwawadi A, Mat, K, Patil E, Bharose AA, Behere GT, Wadaskar RM, Kranthi S (2005). Temporal and intra-plant variability of Cry1Ac expression in Bt-cotton and its influence on the survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Noctuidae: Lepidoptera). Current Science 89: 291-298.
- Kreutzweiser DP, Holmes SB, Capell SS, Eichenberg DC. (1992). Lethal and sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* on aquatic insects in laboratory bioassays and outdoor stream channels. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 49: 252-258.
- Ladics GS, Bardina L, Cressman RF, Mattsson JL, Sampson HA. (2006). Lack of cross-reactivity between the *Bacillus thuringiensis* derived protein Cry1F in maize grain and dust mite Der p7 protein with human sera positive for Der p7-IgE. Regul Toxicol Pharmacol. 44(2): 136-143.
- Liu Y, Tabashnik BE, Meyer, Sk, Crickmore N. (2001). Cross-resistance and stability of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1C in diamondback moth. Applied and Environmental Microbiology 67: 3216-3219.
- Losey J, Rayer LS, Carter ME. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature 399(6733): 214.
- Lu MG, Rui CH, Zhao JZ, Jian GL, Fan XL, Gao XW (2004). Selection and heritability of resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp *kurstaki* and transgenic cotton in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Pest Manag Sci. 60(9): 887-893.
- Lutz B, Wiedemann S, Einspanier R, Mayer J, Albrecht C. (2005). Degradation of Cry1Ab protein from genetically modified maize in the bovine gastrointestinal tract. J Agric Food Chem. 53(5): 1453-1456.
- MacKenzie SA, Lamb I, Schmidt J, Deege L, Morrissey MJ, Harper M, Layton RJ, Prochaska LM, Sanders C, Locke M, Mattsson JL, Fuentes A, Delaney B. (2007).

- Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS-O1507-1 in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol.* 45(4): 551-562.
- Manetti C, Bianchetti C, Casciani L, Castro C, Di Cocco ME, Miccheli A, Motto M, Conti F. (2006). A metabonomic study of transgenic maize (*Zea mays*) seeds revealed variations in osmolytes and branched amino acids. *J Exp Bot.* 57(11): 2613-2625.
- Mandal AB, Elangovan AV, Shrivastav AK, Johri AK, Kaur S, Johri TS. (2004). Comparison of broiler chicken performance when fed diets containing meals of Bollgard II hybrid cotton containing Cry-X gene (Cry1Ac and Cry2ab gene), parental line or commercial cotton. *Br Poult Sci.* 45(5): 657-663.
- Marchosky R, Ellsworth PC, Moser H, Henneberry TJ (2001). Bollgard® and Bollgard II® Efficacy in Near Isogenic Lines of 'DP50' Upland Cotton in Arizona. Arizona Cotton Report, The University of Arizona College of Agriculture and Life Sciences.
- Marvier M, McCreedy C, Rgetz J, Kareiva P. (2007). A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. *Science* 316: 1475-1477.
- Mazza R, Soave M, Morlacchini M, Piva G, Marocco A. (2005). Assessing the transfer of genetically modified DNA from feed to animal tissues. *Transgenic Res.* 14(5): 775-784. .
- McManus BL, Fuller BW, Boetel MA, French BW, Ellsbury MM, Head GP. (2005). Abundance of *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae) in corn rootworm-resistant Cry3Bb1 maize. *J Econ Entomol.* 98(6): 1992-1998.
- Medvinsky AB, Morozov AY, Velkov VV, Li BL, Sokolov MS, Malchow H. (2004). Modeling the invasion of recessive Bt-resistant insects: an impact on transgenic plants. *J Theor Biol.* 231(1): 121-127.
- Meissle M, Vojtech E, Poppy GM. (2005). Effects of Bt maize-fed prey on the generalist predator *Poecilus cupreus* L. (Coleoptera: Carabidae). *Transgenic Research* 14: 123-132.
- Men X, Ge F, Liu X, Yardim EN (2003). Diversity of arthropod communities in transgenic Bt cotton and nontransgenic cotton agroecosystems. *Environmental Entomology* 32: 270-275.
- Mitchell P, Onstad DW. (2005). Effect of extended diapause on evolution of resistance to transgenic *Bacillus thuringiensis* corn by northern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J Econ Entomol.* 98(6): 2220-2234.
- Monnerat RG, Bordat D. (1998). Influence of HD1 (*Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*) on the developmental stages of *Diadegma* sp. (Hym, Ichneumonidae) parasitoid of *Plutella xylostella* (Lep., Yponomeutidae). *J. Appl. Entomol.* 122: 49-51.
- Mulder C, Wouterse M, Raubuch M, Roelofs W, Rutgers M. (2006). Can transgenic maize affect soil microbial communities? *PLoS Comput Biol.* 2(9): e128. .
- Naranjo, S. and P. Ellsworth (2002). Looking for functional non-target differences between transgenic and conventional cottons: implications for biological control. Arizona cotton report, The University of Arizona College of Agriculture and Life Sciences.
- Oberhauser KS, Prisby MD, Mattila HR, Stanley-Horn DE, Sears MK, Dively G, Olson E, Pleasants JM, Lam WKF, and Hellmich RL (2001). Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *PNAS* 98(21): 11913-11918.
- Obrist LB, K. H., Dutton A, Bigler F. (2006). Assessing the effects of Bt maize on the predatory mite *Neoseiulus cucumeris*. *Exp Appl Acarol.* 38(2-3): 125-139.

- Olsen KM, Daly JC, Finnegan EJ, Mahon RJ (2005). Changes in Cry1Ac Bt transgenic cotton in response to two environmental factors: Temperature and insect damage. *Journal of Economic Entomology* 98: 1382-1390.
- Olsen KM, Daly JC, Holt HE, Finnegan EJ. (2005a). Season-long variation in expression of Cry1Ac gene and efficacy of *Bacillus thuringiensis* toxin in transgenic cotton against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol.* 98(3): 1007-1017.
- Orr DB, Landis DA. (1997). Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *J. Econ. Entomol.* 90: 905-909.
- Palm CJ, Schaller DL, Donegan KK, Seidler RJ. (1996). Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* delta-endotoxin. *Canad. J. Microbiol.* 42: 1258-1262.
- Peacock JW, Schweitzer DF, Carter JL, Dubois NR. (1998). Laboratory assessment of the effects of *Bacillus thuringiensis* on native Lepidoptera. *Environ. Entomol.* 27: 450-457.
- Peterson RK, Meyer SJ, Wolf AT, Wolt JD, Davis PM. (2006). Genetically engineered plants, endangered species, and risk: a temporal and spatial exposure assessment for Karner blue butterfly larvae and Bt maize pollen. *Risk Anal* 26(3): 845-858.
- Phipps RH, Deaville ER, Maddison BC. (2003). Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 86(12): 4070-4078.
- Pleasants JM, Hellmich RL, Dively GP, Sears MK, Stanley-Horn DE, Mattila HR, Foster JE, Clark P, and Jones GD (2001). Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *PNAS* 98(21): 11919-11924.
- Poerschmann J, Gathmann A, Augustin J, Langer U, Gorecki T. (2005). Molecular composition of leaves and stems of genetically modified Bt and near-isogenic non-Bt maize--characterization of lignin patterns. *J Environ Qual.* 34(5): 1508-1518.
- Ponsard S, Guitierrez AP, Mills NJ (2002). Effect of Bt-toxin (Cry1Ac) in transgenic cotton on the adult longevity of four heteropteran predators. *Environmental Entomology* 31: 1197-1205.
- Poza M, Pons X, Farinos GP, Lopez C, Ortego F, Eizaguirre M, Castanera P, Albajes, R (2005). Impact of farm-scale Bt maize on abundance of predatory arthropods in Spain. *Crop Protection* 24: 677-684.
- Prutz G, Brink A, Dettner K. (2004). Transgenic insect-resistant corn affects the fourth trophic level: effects of *Bacillus thuringiensis*-corn on the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi*. *Naturwissenschaften* 91(9): 451-454.
- Raps AKJ, Gugerli P, Moar WJ, Bigler F, Hilbeck A. (2001). Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera:Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Mol Ecol.* 10(2): 525-533.
- Ramachandran S, Buntin GD, All JN, Raymer PL, Stewart Jr CN. (1998a) Movement and survival of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) larvae in mixtures of nontransgenic and transgenic canola containing a cryIA (c) gene of *Bacillus thuringiensis*. *Environ. Entomol.* 27(3): 649-656.
- Ramachandran S, Buntin GD, All JN, Tabashnik BE, Raymer PL, Adang MJ, Pulliam DA, Stewart Jr CN. (1998b). Survival, development, and oviposition of resistant

- diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) on transgenic canola producing a *Bacillus thuringiensis* toxin. J. Econ. Entomol. 91(6): 1239-1244.
- Rauschen S, Schuphan I. (2006). Fate of the Cry1Ab protein from Bt-maize MON810 silage in biogas production facilities. J Agric Food Chem. 54(3): 879-883.
- Reuter T, Aulrich K, Berk A, Flachowsky G. (2002). Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: chemical composition and nutritional evaluation. Arch Tierernahr. 56(1): 23-31.
- Riddick EW, Millis NJ (1995). Seasonal activity of carabids (Coleoptera:Carabidae) affected by microbial and oil insecticides in an apple orchard in California. Environ. Entomol. 24: 361-366.
- Riggin Bucci TM, Gould F. (1997). Impact of intraplot mixtures of toxic and nontoxic plants on populations dynamics of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its natural enemies. J. Econ. Entomol. 90: 241-251.
- Romeis J, Dutton A, Bigler F. (2004). *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). Journal of Insect Physiology 50: 175-183.
- Rossi F, Morlacchini M, Fusconi G, Pietri A, Mazza R, Piva G. (2005). Effect of Bt corn on broiler growth performance and fate of feed-derived DNA in the digestive tract. Poult Sci. 84(7): 1022-1030.
- Saxena D, Stotzky G (2001). Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. American Journal of Botany 88: 1704-1706.
- Saxena D, Stewart CN, Altosaar I, Shu Q, Stotzky, G (2004). Larvicidal Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* are released in root exudates of transgenic *B. thuringiensis* corn, potato, and rice but not of *B. thuringiensis* canola, cotton, and tobacco. Plant Physiology and Biochemistry 42: 383-387.
- Stotzky G. (2004). Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants Plant and soil 266(1-2): 77-89.
- Sayyed AH, Schuler TH, Wright DJ. (2003). Inheritance of resistance to Bt canola in a field-derived population of *Plutella xylostella*. Pest Manag Sci. 59(11): 1197-1202.
- Shimada N, Kim YS, Miyamoto K, Yoshioka M, Murata H. (2003). Effects of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin on mammalian cells. J Vet Med Sci. 65(2): 187-191. .
- Schroder M, Poulsen M, Wilcks A, Kroghsbo S, Miller A, Frenzel T, Danier J, Rychlik M, Emami K, Gatehouse A, Shu Q, Engel KH, Altosaar I, Knudsen I. (2007). A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats. Food Chem Toxicol. 45(3): 339-349.
- Sears M, Hellmich RL, Stanley-Horn DE, Oberhauser KS, Pleasants JM, Mattila HR, Siegfried BD, Dively GP. (2001). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. Proceedings of the National Academy of Science 98: 11937-11942.
- Schuler T, Denholm I, Jouanin L, Clark SJ, Clark AJ, Poppy GM. (2001). Population-scale laboratory studies of the effect of transgenic plants on nontarget insects. Mol Ecol. 10(7): 1845-1853. .
- Schuler TH, Potting RP, Denholm I, Clark SJ, Clark AJ, Stewart CN, Poppy GM. (2003). Tritrophic choice experiments with bt plants, the diamondback moth (*Plutella xylostella*) and the parasitoid *Cotesia plutellae*. Transgenic Res. 12(3): 351-361.

- Schuler TH, Denholm I, Clark SJ, Stewart, C.N, Poppy GM (2004). Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Insect Physiology* 50: 435-443.
- Schuler TH, Clark AJ, Clark SJ, Poppy GM, Stewart CN Jr, Denholm I. (2005). Laboratory studies of the effects of reduced prey choice caused by Bt plants on a predatory insect. *Bull Entomol Res.* 95(3): 243-247.
- Siegel J. (2001). The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *Journal of Invertebrate Pathology* 77: 13-21.
- Siegel JP, Shadduck J.A. (1990). Clearance of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* from mammals. *J. Econ. Entomol.* 83: 347-355.
- Siqueira HA, Moellenbeck D., Spencer T, Siegfried BD. (2004). Cross-resistance of Cry1Ab-selected *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) to *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. *J Econ Entomol.* 97(3): 1049-1057.
- Stanley-Horn DE, Dively GP, Hellmich, RL, Mattila HR, Sears MK, Rose R, Jesse LCH, Losey JE, Obrycki JJ, Lewis L. (2001). Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proceedings of the National Academy of Science* 98: 11931-11936.
- Sims SR, Ream JE. (1997). Soil inactivation of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* cryIIA insecticidal protein within transgenic cotton tissue: laboratory microosm and field studies. *J. Agric. Food. Chem.* 45: 1502-1505.
- Siruguri V, Sesikeran B, Bhat RV. (2004). Starlink genetically modified corn and allergenicity in an individual. *J Allergy Clin Immunol.* 113(5): 1003-1004.
- Sisterson MS, Carriere Y, Dennehy TJ, Tabashnik BE. (2005). Evolution of resistance to transgenic crops: interactions between insect movement and field distribution. *J Econ Entomol.* 98(6): 1751-1762.
- Stewart Jr CN, Adang MJ, All JN, Raymer PL, Ramachandran S, Parrott WA. (1996). Insect control and dosage effects in transgenic canola containing a synthetic *Bacillus thuringiensis* cryIAC gene. *Plant Physiol.* 112(1): 115-120.
- Stewart S, Adamczyk Jr JJ, Knighten KS, Davis FM (2001). Impact of Bt cottons expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. *Journal of Economic Entomology* 94: 752-760.
- Stodola TJ, Andow DA, Hyden AR, Hinton JL, Roark JJ, Buschman LL, Porter P, Cronholm GB. (2006). Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ab in southern United States Corn Belt population of European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *J Econ Entomol.* 99(2): 502-507.
- Stokstad E. (2001). Entomology. First light on genetic roots of Bt resistance. *Science* 293(5531): 778.
- Storer NP, Peck SL, Gould F, Van Duyn JW, Kennedy GG. (2003). Spatial processes in the evolution of resistance in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) to Bt transgenic corn and cotton in a mixed agroecosystem: a biology-rich stochastic simulation model. *J Econ Entomol.* 96(1): 56-72.
- Storer NP, Peck SL, Gould F, Van Duyn JW, Kennedy GG. (2003a) Sensitivity analysis of a spatially-explicit stochastic simulation model of the evolution of resistance in

- Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) to Bt transgenic corn and cotton. J Econ Entomol. 96(1): 173-187.
- Storer NP, Babcock JM, Edwards JM. (2006). Field measures of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) mortality caused by Cry34/35Ab1 proteins expressed in maize event 59122 and implications for trait durability. J Econ Entomol. 99(4): 1381-1387.
- Stotzky G. (2004). Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*, especially from transgenic plants. Plant and soil 266(1-2): 77-89.
- Sutton S, Assaad AH, Steinmetz C, Rothenberg ME. (2003). A negative double-blind, placebo-controlled challenge to genetically modified corn. J Allergy Clin Immunol 112: 1011-1012.
- Tabashnik BE, Liu YB, Malvar T, Heckel DG, Masson LFerré J. (1998). Insect resistance to *Bacillus thuringiensis*: uniform or diverse? Phil.Trans. R. Soc. Lond. B 353: 1751-1756.
- Tabashnik BE, Liu YB, Dennehy TJ, Sims MA, Sisterson MS, Biggs RW, Carriere Y. (2002). Inheritance of resistance to Bt toxin crylac in a field-derived strain of pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). J Econ Entomol. 95(5): 1018-1026
- Tabashnik B, Dennehy TJ, Sims MA, Larkin K, Head GP, Moar WJ, Carrière Y (2002a) Control of Resistant Pink Bollworm (*Pectinophora gossypiella*) by Transgenic Cotton That Produces *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry2Ab. Applied and Environmental Microbiology 68: 3790-3794.
- Tabashnik BE, Carrière Y, Dennehy TJ, Morin S, Sisterson MS, Roush RT, Shelton AM, Zhao JZ (2003). Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field. Journal of Economic Entomology 96: 1031-1038.
- Tabashnik B, Carrière Y. (2004). Bt transgenic crops do not have favorable effects on resistant insects. Journal of Insect Science 4: 1-3.
- Tabashnik BE, Gould F, Carriere Y. (2004). Delaying evolution of insect resistance to transgenic crops by decreasing dominance and heritability. J Evol Biol. 17(4): 904-912.
- Tabashnik BE, Liu YB, Unnithan, DC, Carrière Y, Dennehy TJ, Morin S. (2004a). Shared Genetic Basis of Resistance to Bt Toxin Cry1Ac in Independent Strains of Pink Bollworm." Journal of Economic Entomology 97: 721-726.
- Tabashnik B. (2005) Refuges in India and delayed resistance to Bt crops. Nat Biotechnol. 4: 414.
- Tabashnik BE, B.iggs RW, Higginson DM, Henderson S, Unnithan DC, Unnithan GC, Eilers-Kirk C, Sisterson MS, Dennehy TJ, Carriere Y, Morin S. (2005). Association between resistance to Bt cotton and cadherin genotype in pink bollworm. J Econ Entomol. 98(3): 635-644.
- Tabashnik BE, Dennehy TJ, Carriere Y. (2005a). Delayed resistance to transgenic cotton in pink bollworm. Proc Natl Acad Sci U S A. 102(43): 15389-15393.
- Tapp H, Stotzky G. (1995a). Insecticidal activity of the toxins from *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays. Appl Environ Microbiol. 61(5): 1786-1790.
- Tapp H, Stotzky G. (1995b). Dot blot enzyme-linked immunosorbent assay for monitoring the fate of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* in soil. Appl Environ Microbiol. 61(2): 602-609.

- Taylor ML, Hyun Y, Hartnell GF, Riordan SG, Nemeth MA, Karunanandaa K, George B, Astwood JD. (2003). Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from YieldGard Rootworm (MON863), YieldGard Plus (MON810 x MON863), nontransgenic control, or commercial reference corn hybrids. *Poult Sci.* 82(12): 1948-1956.
- Taylor ML, Hartnell G, Nemeth M, Karunanandaa K, George B. (2005). Comparison of broiler performance when fed diets containing corn grain with insect-protected (corn rootworm and European corn borer) and herbicide-tolerant (glyphosate) traits, control corn, or commercial reference corn. *Poult Sci.* 84(4): 587-593.
- Thomas WE, Ellar DJ. (1983). *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* crystal delta-endotoxin; effects on insect and mammalian cells *in vitro* and *in vivo*. *J. Cell. Sci.* 60: 181-197.
- Tony MA, Butschke A, Broll H, Grohmann L, Zagon J, Halle I, Dänicke S, Schauzu M, Hafez HM, Flachowsky G. (2003). Safety assessment of BT 176 maize in broiler nutrition: degradation of maize-DNA and its metabolic fate. *Archives of Animal Nutrition* 57(4): 235-252.
- Turlings TC, Jeanbourquin PM, Held M, Degen T. (2005). Evaluating the induced-odour emission of a Bt maize and its attractiveness to parasitic wasps. *Transgenic Res.* 14(6): 807-816.
- Taylor ML, Hyun Y, Hartnell GF, Riordan SG, Nemeth MA, Karunanandaa K, George B, Astwood JD. (2003). Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from YieldGard Rootworm (MON863), YieldGard Plus (MON810 x MON863), nontransgenic control, or commercial reference corn hybrids. *Poult Sci.* 82(12): 1948-1956.
- Vacher C, Bourguet D, Rousset C, Chevillon C, Hochberg ME (2003). Modelling the spatial configuration of refuges for a sustainable control of pests: a case study of *Bt* cotton. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 378-387.
- Vacher C, Weis AE, Hermann D, Kossler T, Young C, Hochberg ME. (2004). Impact of ecological factors on the initial invasion of Bt transgenes into wild populations of birdseed rape (*Brassica rapa*). *Theor Appl Genet.* 109(4): 806-814.
- Vacher C, Bourguet D, Desquilbet M, Lemarie S, Ambec S, Hochberg ME. (2006). Fees or refuges: which is better for the sustainable management of insect resistance to transgenic Bt corn? *Biol Lett.* 2(2): 198-202.
- Van der Salm T, Bosch D, Honee G, Feng L, Munsterman E, Bakker P, Stiekema WJ, Visser B. (1994). Insect resistance of transgenic plants that express modified *Bacillus thuringiensis* cryIA(b) and cryIC genes: a resistance management strategy. *Plant Mol Biol.* 26(1): 51-59.
- Vazquez-Padron RI, Gonzalez-Cabrera J, Garcia-Tovar C, Neri-Bazan L, Lopez-Revilla R, Hernandez M, Moreno-Fierro L, de la Riva GA. (2000). Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. *kurstaki* HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. *Biochem Biophys Res Commun.* 271(1): 54-58. .
- Venette RC, Hutchison W, Andow DA. (2000). An in-field screen for early detection and monitoring of insect resistance to *Bacillus thuringiensis* in transgenic crops. *J Econ Entomol.* 93(4): 1055-1064.
- Verhalen L, Greenhagen BE, Thacker RW (2003). Lint yield, lint percentage, and fiber quality response in Bollgard, Roundup Ready, and Bollgard/Roundup Ready Cotton. *Journal of Cotton Science* 7: 23-38.

- Vojtech E, Meissle M, Poppy GM (2005). Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). *Transgenic Research* 14: 133-144.
- Wagner DL, Peacock JW, Carter JL, Talley SE. (1996). Field assessment of *Bacillus thuringiensis* on nontarget Lepidoptera. *Environ. Entomol.* 25: 1444-1454.
- Walker DR, Narvell J., Boerma HR, All JN, Parrott WA. (2004). A QTL that enhances and broadens Bt insect resistance in soybean. *Theor Appl Genet.* 109(5): 1051-1057.
- Wan P, Zhang Y, Wu K, Huang M. (2005). Seasonal expression profiles of insecticidal protein and control efficacy against *Helicoverpa armigera* for Bt cotton in the Yangtze River valley of China. *J Econ Entomol.* 98(1): 195-201.
- Wang H, Ye Q, Wang W, Wu L, Wu W. (2006). Cry1Ab protein from Bt transgenic rice does not residue in rhizosphere soil. *Environmental Pollution* 143: 449-455.
- Wenes AL, Bourguet D, Andow DA, Courtin C, Carre G, Lorme P, Sanchez L, Augustin S. (2006). Frequency and fitness cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Chrysomela tremulae* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Heredity* 97(2): 127-134.
- Whaley WH, Anhold J, Schaalje GB. (1998). Canyon drift and dispersion of *Bacillus thuringiensis* and its effects on select nontarget lepidopterans in Utah. *Environ. Entomol.* 27: 539-548.
- Whitehouse MEA, Wilson LJ, Fitt, G (2005). A comparison of arthropod communities in transgenic Bt and conventional cotton in Australia. *Environmental Entomology* 34: 1224-1241.
- Wiedemann S, Lutz B, Kurtz H, Schwarz FJ, Albrecht C. (2006). *In situ* studies on the time-dependent degradation of recombinant corn DNA and protein in the bovine rumen. *J Anim Sci.* 84(1): 135-144.
- Wipfli MS, Merrott RW (1994). Effects of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* on nontarget benthic insects through direct and indirect exposure. *J North Amer. Benthological Soc.* 13: 190-205.
- Wraight CL, Zangerl AR, Carroll MJ, Berenbaum MR. (2000). Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97(14): 7700-7703.
- Wu K, Guo Y, Gao S (2002). Evaluation of the natural refuge function for *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) within *Bacillus thuringiensis* transgenic cotton growing areas in north China. *J Econ Entomol.* 95(4): 832-837.
- Wu K, Guo Y. (2005). The evolution of cotton pest management practices in China. *Annual Review of Entomology* 50: 31-52.
- Wu K, Mu W, Liang G, Guo Y. (2005a). Regional reversion of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) is associated with the use of Bt cotton in northern China. *Pest Manag Sci.* 61(5): 491-498.
- Wu K, Guo Y, Head G. (2006). Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to bt insecticidal protein during 2001-2004 in China. *J Econ Entomol.* 99(3): 893-898.
- Yousten AA. (1973). Effect on the *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin on an insect predator which has consumed intoxicated cabbage looper larvar. *J. Invertebr. Pathol.* 21: 312-314.
- Zhang BH, Pan XP, Guo TL, Wang QL, Anderson TA. (2005). Measuring gene flow in the cultivation of transgenic cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Mol Biotechnol.* 31(1): 11-20.

- Zhao JZ, Collins HL, Tang JD, Cao J, Earle ED, Roush RT, Herrero S, Escriche B, Ferre J, Shelton AM. (2000). Development and characterization of diamondback moth resistance to transgenic broccoli expressing high levels of Cry1C. *Appl Environ Microbiol.* 66(9): 3784-3789.
- Zhao JZ, Li YX, Collins HL, Cao J, Earle ED, Shelton AM. (2001). Different cross-resistance patterns in the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistant to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1C. *J Econ Entomol.* 94(6): 547-552. .
- Zhao JZ, Cao J, Li Y, Collins HL, Roush RT, Earle ED, Shelton AM. (2003). Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution. *Nat Biotechnol* 21(12): 1493-1497.
- Zhao J, Cao J, Collins HL, Bates SL, Roush RT,, Earle ED, Shelton AM (2005). Concurrent use of transgenic plants expressing a single and two *Bacillus thuringiensis* genes speeds insect adaptation to pyramided plants. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 102: 8426-8430.
- Zwahlen C, Hilbeck A, Howald R, Nentwig W. (2003). Effects of transgenic *Bt* corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Molecular Ecology* 12: 1077-1086.